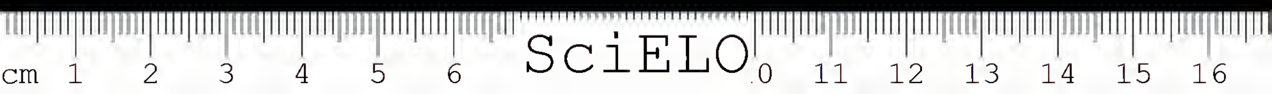
MEMORIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

1940

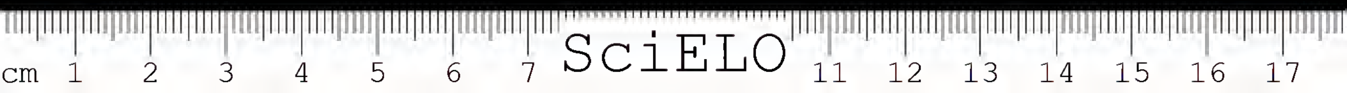
TOMO XIV

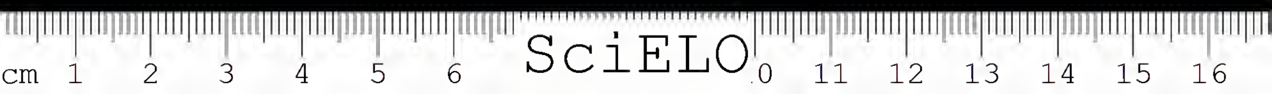


São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

1




SciELO

MEMORIAS

DO

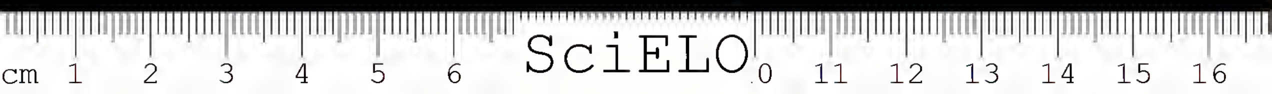
INSTITUTO BUTANTAN

1940

TOMO XIV



São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65



INDICE


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

NOTICIARIO

Ao ser impresso o presente numero das "Memorias", é a seguinte a relação do pessoal tecnico superior das varias secções do Instituto Butantan:

Diretor:

Jayme Cavalcanti, Dipl. Med., Prof. Quim. Biol. Fac. Med. S. Paulo.

Assistentes-chefes:

Alcides Prado, B. Cienc. & L., Dipl. Med.
Cicero de Moura Neiva, B. Cienc. & L., Dipl. Med. Veter., ex-Prof. Esc. Med. Veter. S. Paulo.
Flavio Oliveira Ribeiro da Fonseca, Dipl. Med. (D. M.), Prof. Parasit. Esc. Paul. Med.
Joaquim Travassos da Rosa, B. Cienc. & L., Dipl. Med.
José Bernardino Arantes, Dipl. Farm., Dipl. Med. (D. M.)
Moacyr de Freitas Amorim, Dipl. Med., Prof. Fac. Med. Veter. S. Paulo.
Paulo Monteiro de Barros Marrey, Dipl. Med.
Sebastião de Camargo Calazans, Dipl. Med.

Assistentes:

Aristides Vallejo Freire, Dipl. Med.
Armando Taborda, B. Cienc. & L., Dipl. Quim.
Fernando Paes de Barros, Dipl. Farm., Dipl. Med. (D.M.)
Jandyra Planet do Amaral, Dipl. Med. (D. M.)
José Ribeiro do Valle, B. Cienc. & L., Dipl. Med. (D. M.), Prof. Farmacol. Esc. Paul. Med.
Leonidas de Toledo Piza, Dipl. Quim.
Paulo Rath de Souza, Dipl. Med.

Assistente-quimico:

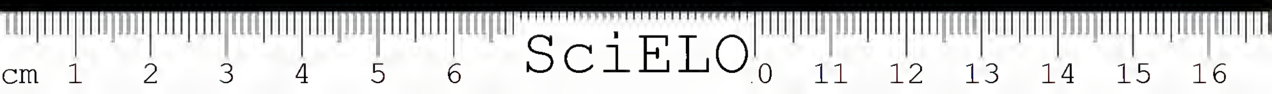
Antonio de Salles Teixeira, Dipl. Farm.

Assistentes-auxiliares:

Ananias Porto, Dipl. Med.
Domingos Yered, Dipl. Med.
Favorino Prado Junior, Dipl. Med.
G. Karmann, Dipl. Quim. Ind.
Laura Comette Taborda, B. Cienc. & L., Dipl. Quim.
Wolfgang Bücherl, Dipl. Fil. Biol. (D. Fil. Biol.).

Toda a correspondencia cientifica, relativa ás "Memorias", deve ser dirigida ao

Editor, MEMORIAS DO INSTITUTO BUTANTAN
Caixa Postal 65
SÃO PAULO, BRASIL


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

RECORDANDO...

Recordar é viver. Viver no presente, o passado, é preparar o futuro.
(pelo dr. VITAL BRAZIL)

Quando passo, pela mente, o passado, procurando a razão de ter sido conduzido ao estudo do ofidismo, sou levado a crer que o assunto perseguiu-me, ou por outra, que o destino teve uma influencia decisiva sobre este fato.

Cursando o segundo ano de medicina no Rio, fiz-me amigo de um fotografo estabelecido à rua da Carioca, a cujos filhos menores lecionava. Homem inteligente e instruido, esse amigo, por varias vezes, instou para que eu estudasse um vegetal, cujos efeitos miraculosos sobre os acidentes ofidicos ele garantia. fazendo-me ver a conveniencia de tomar esse tema para escrever a tese inaugural.

Depois de alguma hesitação resolvi aceitar os conselhos do amigo. Fui, como medida inicial, procurar o professor Domingos Freire, na epoca catedratico de quimica organica, o qual adquirira grande renome pelos seus trabalhos experimentais sobre a febre amarela. Foi pouco amavel o eminente professor. Recebeu-me de senho carregado e disse-me que não poderia prestar-me o auxilio que ambicionava: conselhos de mestre, um canto em seu laboratorio e animais para experiencia. Ficou, porisso, adiada essa primeira oportunidade.

Mais tarde, ainda durante o curso medico, foi-me dado presenciar, na Faculdade, uma experiencia que exerceu no meu espirito grande influencia, despertando-me interesse pelo assunto. Um farmaceutico, cujo nome silenciarei, descobriu um remedio de base vegetal, para cura infalivel das mordeduras de cobra. Requereu aprovação do preparado, que foi submetido à consideração da Academia Nacional de Medicina para dar parecer. Esta nomeou uma comissão da qual fazia parte o professor Souza Lima, que exigiu as experiencias realizadas no pavilhão central da Faculdade de Medicina. Essa experiencia, assistida por grande numero de estudantes, de medicos e de professores, na presença da comissão, teve efeito impressionante e inesperado. Uma grande caixa de madeira, tendo uma das frentes telada, permitindo ver-se o que se passava no seu interior e uma divisão movel no meio, possibilitando estabelecer ou interromper a comunicação entre as duas partes da mesma, serviu de cenario à experiencia que ia ser levada a efeito. Uma grande Cascavel estava em um dos compartimentos da referida caixa, irritada pelo ruido e a presença de tanta gente, pronta para lançar o bote na primeira oportunidade. Dois cães, inconcientes do perigo, tranquilamente esperavam o momento do contato fatidico. Um deles, forte, de cerca de 10 quilos. escolhido para ser tratado. fôra, de acordo com o plano traçado pela comissão, o primeiro a ser introduzido no 2.º compartimento da caixa. Levantada a comunicação que o separava da Cascavel, esta, enfurecida, lançou-lhe terrivel bote sobre o focinho, presen-

ciado por toda a assistencia. Imediatamente, separado da serpente, foi levado para um aparelho contensor para receber o remedio introduzido por meio de uma sonda ao estomago do animal. Essa operação correu com alguma dificuldade, durando cerca de 15 minutos. Instantes depois de terminada a administração do remedio, o animal sucumbia, na mesa de contensão. Outro animal, de pequeno talhe, tomado para testemunha, foi como o primeiro, introduzido na caixa. Mordido varias vezes pela Cascavel, foi retirado e conservado por varios dias no bioterio da Faculdade sem que apresentasse o minimo sintoma de envenenamento.

O resultado desconcertante desta experiencia, deixou-me duvidas, aguçando-me a curiosidade cientifica. Teria o cão tratado sucumbido á ação do remedio ou á ação da peçonha?. Qual o motivo da confiança do experimentador, que se expusera a tão grande vexame publico? Porque razão teria resistido o pequeno animal testemunha a tantas mordeduras do ofidio, sem ao menos apresentar sintomas de envenenamento? Estas e outras interrogações que se levantaram em meu espirito firmaram-me na intenção de examinar um dia a interessante questão, que no momento fugia ás possibilidades do curioso estudante.

Uma vez diplomado fui para São Paulo, onde iniciei a vida clinica em companhia dos saudosos colegas Arthur Mendonça e Diogo de Faria, ingressando mais tarde com eles no Serviço Sanitario. Tocou-me o posto de Inspetor Sanitario, no desempenho de cujas funções tive oportunidade de percorrer quasi todas as cidades do interior, no combate a varias epidemias. Em 1895 resolvi tentar a clinica em Botucatú, onde encontrei meu velho mestre, o Rev. J. de Carvalho Braga, que falou-me nas virtudes curativas da Pulmeria, empregada com resultados positivos no tratamento das mordeduras de cobras. Pediu-me, mesmo, que examinasse a questão, pois, era de opinião que eu prestaria grande serviço á humanidade si, com o prestigio de medico, tornasse conhecido esse grande remedio.

Em contacto constante com a gente do povo, procurando tomar conhecimento do seu modo simples de viver, de suas idéias, de suas crendices, tive oportunidade de verificar a confiança que depositavam nos *curadores de cobra*, como chamavam os caboclos que tratavam, por meio de raizes, os acidentados por serpentes. Os vegetais preconizados eram numerosos, quasi tantos quanto os curadores. Isto levou-me a pensar que talvez houvesse uma substancia comum nos vegetais que explicasse a proclamada ação curativa. Resolvi a examinar a questão. Montei pequeno laboratorio, acumulando raizes, caules e frutos para o preparo de extratos e tinturas, que me serviriam nas projetadas experiencias. Tratei de adquirir uma serpente venenosa, uma Cascavel, que me foi fornecida por um dos caboclos *curadores*. As primeiras Cascaveis sucumbiram porque eram traumatizadas no momento da captura. Afinal consegui uma em boas condições, que foi colocada em caixa reforçada de madeira no meu improvisado laboratorio. Era um belo especime de Cascavel (*Crotalus terrificus* LAUR.). Começou minha aprendizagem. Tive de vencer a mim mesmo, ao medo inato das serpentes. Era preciso colher o veneno em estado de pureza, em ordem a poder avaliar-lhe a quantidade. Não dispunha de aparelho de contensão. Comecei, porisso, provocando a mordedura em algodão hidrofilo, tarado; pela diferença de peso avaliava a quantidade de veneno, empregado em solução titulada. Os resultados das primeiras experiencias foram negativos para diversos vegetais examinados.

Por esse tempo, Calmette publicava os primeiros resultados alcançados pela soroterapia antiofidica na Indo-China, com imunização do cavalo contra o veneno de *Naja*. A leitura de um pequeno resumo desses trabalhos foi a luz, que

lançou-me sobre o verdadeiro caminho que me conduziria à verdade. Com verdadeiro entusiasmo e sem perda de tempo tratei de imunizar animais contra o veneno da Cascavel e de adquirir o material indispensavel para obtenção do soro. Ao fim de algum tempo convenci-me de que precisava de recursos tecnicos, que só em meio maior poderia encontrar. Resolvi, porisso, transferir-me de novo para São Paulo, candidatando-me ao cargo de ajudante do Instituto Bacteriologico, onde teria, certamente, os elementos para enfrentar o problema que me empolgava. Em junho de 1897 consegui a almejada nomeação, tendo encontrado no Instituto, como diretor o dr. Adolfo Lutz e como ajudante o dr. Arthur Mendonça e o dr. Bonilha de Toledo. Deste ultimo recebi as primeiras lições de tecnica bacteriologica. Embora a questão do ofidismo fosse extranha aos objetivos do Instituto, o dr. Adolfo Lutz bondosamente, não só permitiu ocupar-me do assunto, como prontificou-se auxiliar-me, dando-me sabios conselhos para resolução de questões de ordem prática que se apresentavam. Entre estas a que mais me preocupava era a extração do veneno, de modo a obtê-lo separado de corpos estranhos, em condições de ser medido ou pesado. Para isto, seria preciso um bom aparelho de contensão, em ordem a garantir o operador contra possivel acidente durante a extração. Foi o dr. Adolfo Lutz quem imaginou e mandou executar o laço que tão bons serviços prestou e ainda presta na captura e contensão das serpentes. Com esse aparelho começamos a fazer colheita regular e periodica da peçonha da Cascavel, que haviamos trazido de Botucatú e de outras especies venenosas que conseguimos em São Paulo. Pouco a pouco fui-me familiarizando com o manejo das serpentes, procurando ensinar auxiliares indispensaveis à execução da arriscada operação. Não dispondo o Instituto de verba para aquisição de serpentes, tive eu mesmo de assumir este encargo. Em pequeno terreno adquirido proximo à minha residencia, mandei construir meu primeiro serpentario, bastante imperfeito, o qual serviu-me de orientação quando mais tarde tive de construir outros em Butantan.

Nesse periodo trabalhei intensameste na aquisição de serpentes e na propaganda entre agricultores amigos, dos meios de captura e transporte de ofidios, distribuindo-lhes laços e caixas. Visitei algumas fazendas nas proximidades da Vila de Cotia, para caçar serpentes e ensinar aos trabalhadores agricolas o uso do laço. Tomei conhecimento das lendas vulgarizadas sobre os ofidios, procurando interpretar-lhes o verdadeiro sentido.

Quando já dispunha de pequena quantidade de peçonha continuei os estudos desta sobre pequenos animais de laboratorio, coelhos, cobaios e pombos. Distingui logo a nitida separação do efeito do veneno da Cascavel do das outras especies, julgando-me autorizado a grupá-los nos dois tipos: crotalico e botropico. Comecei então a imunização de cães contra os dois tipos de peçonha, com a idéia de preparar soros antitoxicos especificos, o que consegui em pequena escala. Confiante na experiencia de imunização, levada a efeito em cães, tentei imunizar um muar que por acaso ou esquecimento se encontrava no Instituto. O resultado foi desastroso, pois o animal sucumbiu em menos de 24 horas, com todos os sintomas de envenenamento, a despeito da dose infinitamente pequena injetada. Esse insucesso seguido de outros revelou-me a grande sensibilidade dos grandes herbivoros, preparando-me para enfrentar o problema pratico da imunização do cavalo.

Estavam as coisas neste pé, quando o aparecimento da peste bubonica em Santos, creou situação propicia, para continuar em escala muito maior os trabalhos de soroterapia antiofidica iniciados no Instituto Bacteriologico.

Encarregado do preparo do soro contra peste, em Butantan, para ali segui em dezembro de 1899, levando com o peso da responsabilidade desta honrosa

incumbencia, o ardor cientifico, a preocupação de solucionar o problema do ofidismo.

Improvisação de laboratorios, pelo fechamento de rancho aberto, que, na fazenda de Butantan, servia para a ordenha, a construção das primeiras caixas de alvenaria, para deposito das serpentes venenosas, que possuia em numero regular, a intensificação da propaganda para aumentar esse material de estudo, foram os primeiros objetivos visados no desenvolvimento dos planos que trazia em mente.

Varios cavalos foram imunizados contra o veneno crotalico e outros contra o veneno botropico. Começaram os estudos de caraterização das diferentes peçonhas pelas reações biologicas. Os soros anti-peçonhentos começaram a ser distribuidos em circulo restrito de agricultores, o qual pouco a pouco foi se alargando até atingir a algumas centenas em correspondencia direta com o Instituto. As cobras encontradas por ocasião dos trabalhos agricolas eram capturadas e enviadas ao Butantan, recebendo o fazendeiro, em permuta, empolas do soro curativo e bem assim seringa apropriada para sua aplicação.

Desta arte conseguiu o Instituto a valiosa cooperação dos agricultores na solução pratica do problema, eles que eram realmente os maiores interessados, por pagarem o maior tributo ao ofidismo.

Em dezembro de 1901 fiz a primeira conferencia sobre o ofidismo levada a efeito na Escola de Farmacia de São Paulo, que na epoca funcionava no palacete Marqueza de Santos no começo da rua Brigadeiro Tobias. Essa conferencia acompanhada de demonstrações experimentais, nas quais, pela primeira vez, demonstrei, em publico, a eficacia do tratamento especifico, teve grande assistencia de medicos, professores e representantes das autoridades e de varias classes sociais, conseguindo pela repercussão obtida interessar grande numero de pessoas na solução do problema.

Outras conferencias seguiram-se sempre acompanhadas de demonstrações praticas: extração de veneno e ação preventiva e curativa dos soros especificos.

Ao lado dos meios de propaganda oral, encetei a serie de publicações sobre o assunto. A primeira conferencia foi editada e largamente distribuida. Artigos em que condensava os resultados de estudos sobre esse tema foram inseridos na Revista Medica de S. Paulo.

Assim foram se desenvolvendo no Instituto Butantan os estudos sobre as serpentes e seus venenos, assunto que se tornou nota dominante, chamando para êle a atenção dos poderes publicos, dos homens de ciencia, do povo de S. Paulo e dos estrangeiros.

Não me vanglorio da obra de Butantan, porque reconheço que nela colaboraram elementos de tão grande valor, que o meu papel resumiu-se à função de levantar o tema e de coordenar vontades em beneficio do que se tinha em mente realizar.

Quando penso que o Butantan aí está, com raizes profundas no meio social, sustentado por uma pleiade de jovens cientistas, trabalhando intensamente pelo seu engrandecimento, que dias não se passam, sem que os soros anti-peçonhentos, não salvam da morte, algumas vitimas do ofidismo, sinto-me feliz e largamente compensado de todos os trabalhos, rendendo graças ao Creador de todas as coisas, por haver colocado em meu caminho esse humanitario problema, dando-me forças para levá-lo a bom termo.

a) VITAL BRAZIL

Rio, 23 de Outubro de 1940.

598.121:591.986

NOTAS OFIOLOGICAS

5. Observações sobre serpentes da Colombia

POR

ALCIDES PRADO

Passo a dar uma breve noticia das serpentes que foram remetidas da Colombia, no periodo de 1938-1939, pelos revmos. irmãos Daniel e Nicéforo Maria, respectivamente, do Colegio de San José, de Medellin, e do Instituto de La Salle, de Bogotá.

Compreende um ligeiro estudo de cada uma das serpentes examinadas, especialmente baseado nos caracteres devidos à folidose e colorido geral.

O tempo gasto neste mister foi de algum modo recompensado pelo resultado colhido, que consistiu numa pequena contribuição ao estudo dos ofidios da Colombia.

Fam. **Boidae**

Subfam. **Boinae**

Gen. CONSTRICTOR LAURENTIUS

Constrictor constrictor (L.)

No. 10.089, jovem ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Porto Berrio, com data de captura: agosto 1938.

E. 88; V. 248; A. 1; Subc. 64.

Propria da região neotropica, porém não assinalada como frequente na Colombia, onde a forma mais encontradiça é a *Constrictor imperator* (DAUDIN).

Cinza-violacea, estampando-se no dorso faixas pardo-negras, as quais se expandem lateralmente, e onde se alternam com outras ovais ou rombicas, da

mesma côr; as primeiras, nas porções expandidas, são atravessadas por u'a linha longitudinal clara, ao passo que as segundas são apenas descoradas na parte central; as manchas sobre a cauda são alongadas, vermelho-tijolo, e fortemente guarnecidas de negro; a parte superior da cabeça é cortada ao meio por uma forte estria negra.

Habita os campos e as florestas, muitas vezes subindo às arvores. As giboias, como elas são vulgarmente chamadas, nutrem-se de pequenos roedores. São animais essencialmente noturnos, que geralmente atingem grandes proporções.

Lacèpède diz que, no Mexico, as giboias eram veneradas pelos antigos, que delas se serviam para os motivos esculturais, nas obras de arte, como estatuas, vasos de terra-cota e de pedra.

Gen. BOA L.

Boa annulata (Cope)

No. 179, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Chocó.

Rostral pouco mais alta do que larga; duas pequenas escamas por trás da rostral, que a separam das nasais; supraoculares não aumentadas; 11 escamas de olho a olho, na fronte, e 12 ao redor do mesmo; 1 preocular; 3 frenais; 14 supralabiais, todas escavadas, com exceção da ultima, sendo que as que se colocam por debaixo e atrás do olho o são mais fortemente; infralabiais posteriores tambem escavadas.

Pardacenta, com desenhos pardo-amarelados dos lados; cabeça da côr geral; ventre uniformemente amarelado. O colorido difere do descrito por Boulenger, o que se poderá atribuir a uma variação racial.

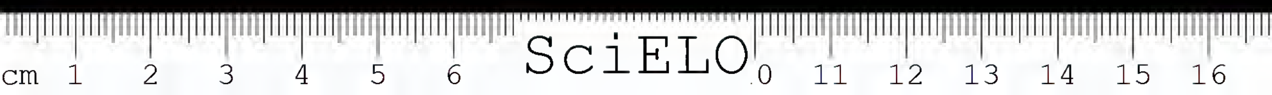
Comprimento total 1.040 mm.; cauda 180 mm..

Boa hortulana cookii (Gray)

No. 178, jovem ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Villavicencio.

E. 40; V. 259; A. 1; Subc. 109.

Rostral quasi tão alta quanto larga; nasais em contacto por trás da rostral, seguidas de grandes prefrontais; supraoculares pouco aumentadas, as quais são separadas do olho por uma serie de escamas; 12 escamas de olho a olho, na fronte, e 14 ao redor do mesmo; 1 preocular; 2 frenais; 14 supralabiais, fortemente escavadas as que se encontram por debaixo e atrás do olho; infralabiais, com as posteriores escavadas.



Pardacenta em cima, com duas series de desenhos negros romboidais, alternados uns e paralelos outros; parte superior da cabeça com manchas pardo-negras, dando-lhe um aspecto marmoreo, e duas listras negras atrás do olho, sendo que a mais inferior atinge a comissura dos labios.

A descrição do colorido da especie em apreço, assemelha-se à de Boulenger para a forma A.

Fam. **Colubridae**

Subfam. **Colubrinae**

Gen. HELICOPS Wagler

Helicops angulata (L.)

No. 163, jovem ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente do Alto Magdalena.

E. 19; V. 121; A. 1/1; Subc. 64/64 + 1.

Spl. 8 (4.ª junto ao olho); T. 3 + 3.

Pardo-cinza em cima, com cintas mais ou menos regulares pardo-escuras, formando como que faixas que se estreitam dos lados, onde se fundem com as ventrais; grande mancha romboidal na nuca; ventre amarelado, com faixas pardo-escuras mais ou menos regulares.

Como anomalia verificamos no exemplar o seguinte: ausencia da frenal, devido à fusão com a nasal respectiva em ambos os lados; temporais 3 + 3, ao invés de 1 ou 2 + 2 ou 3.

É uma especie essencialmente aquatica, que se nutre naturalmente de peixes e pequenos batraquios.

Gen. EUDRYAS Fitzinger

Eudryas boddaertii (Sentzen)

No. 169, adulto ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Bucaramanga.

E. 17; V. 185; A. 1/1; Subc. 110/110 + 1.

Spl. 9 (4.ª, 5.ª e 6.ª junto ao olho); T. 2 + 2.

Cinza em cima, com dois pares de linhas claras nos flancos, por todo o corpo; cabeça com uma distinta faixa negra, através do olho, para cada lado; ventre olivaceo; garganta marmorea, em pardo, como tambem as supralabiais.

Colorido bastante variavel. Tem o nome vulgar de "Yaruma", na Colombia, porque é encontrada nas raizes do "Yarumo", arvore do genero *Cecropia*, segundo Daniel.

Comprimento total 1.020 mm.; cauda 310 mm..

Gen. DRYMARCHON Fitzinger

Drymarchon corais corais (Boie)

No. 10.090, jovem ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Bello, com data de captura: junho 1937.

E. 17; V. 203; A. 1; Subc. 87/87 + 1.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 8; T. 2 + 2.

O genero *Drymarchon*, segundo Amaral, foi criado por Fitzinger justamente para conter a especie *corais* que lhe foi escolhida para tipo. Diz, mais, o seguinte: "Esta especie, descrita primeiramente por Boie, esteve originalmente ligada ao genero *Coluber*, do qual foi sucessivamente transferida para os generos *Georgia*, por Baird e Girard em 1853, *Spilotes*, por Duméril e Bibron em 1854, *Geoptyas*, por Steindachner em 1867 e *Coryphodon*, por Jan em 1876, havendo-a Boulenger em 1894 restituido ao genero *Coluber*, na sua concepção".

Dada sua aproximação com as serpentes do genero *Spilotes*, estas como aquelas, são vulgarmente conhecidas por "Caninana" no Brasil e possuem os mesmos habitos: são arboricolas, encontrando-se, contudo, nos campos; alimentam-se de pequenos roedores, passaros, lagartos e rãs.

Gen. LYGOPHIS Fitzinger

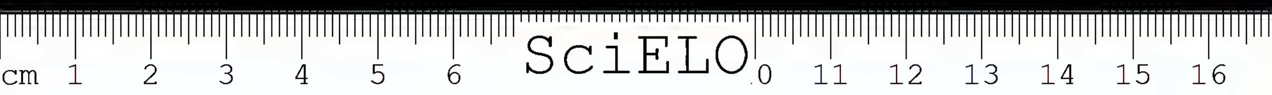
Lygophis lineatus (L.)

No. 177, jovem ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Barrancabermeja.

E. 19; V. 164; A. 1/1; Subc. 84/84 + 1.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 9; T. 1 + 2.

Oliva-palido, em cima, com uma faixa pardo-negra guarnecida de amarelo sobre a linha vertebral, a qual tem inicio ao nivel do focinho; duas linhas pardo-negras laterais, que se alargam dos lados da cabeça, através dos olhos; ventre branco-amarelado.



Gen. LIOPHIS WAGLER

Liophis cobella (L.)

No. 175, adulto ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente do Sarare.

E. 17; V. 148; A. 1/1; Subc. 37/37 + n.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 10; T. 1 + 2.

Enegrecida em cima, com linhas transversais claras, formando faixas; ventre identico, porém com faixas mais nitidas.

Comprimento total: 582 mm..

Liophis undulatus (WIED)

No. 176, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de La Pedrera.

E. 17; V. 165; A. 1/1; Subc. 62/2 + 1.

Spl. 8 (3.ª, 4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 8; T. 1+ 2.

Pardacenta em cima, com uma faixa negra vertebral, em ziguezague; uma listra negra se dirige do olho atrás, em ambos os lados, para o lado do pescoço; outra da mesma côr em cada um dos lados da cauda; ventre uniformemente amarelado, guarnecido, de ambos os lados, por pontilhados negros que se colocam nos angulos das ventrais.

Gen. XENODON GÜNTHER

Xenodon colubrinus GÜNTHER

No. 10.006, jovem ♀, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Yarumal, com data de captura: março 1938.

E. 19; V. 149; A. 1; Subc. 45/45 + 1.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 9; T. 1 + 3.

Pertencente à fauna da America Central e do Sul (Brasil, Bolivia, Perú e Colombia) e da America do Norte (Mexico Meridional). Proxima a *Xenodon suspectus* COPE, que ocorre no Perú, da qual se distingue pelo maior numero de ventrais e pelo colorido geral.

Pardo-palida em cima, com faixas pardo-escuras retraídas ao meio, e uma grande mancha da mesma côr sobre a nuca, a qual se bifurca atrás; ventre amarelo mais ou menos ofuscado por pontilhados pardos.

Alimentam-se como as outras "Boipevas", nome como são conhecidas no Brasil, de rãs e sapos.

Gen. ATRACTUS Wagler

Atractus arangoi Prado

No. 136, adulto ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente da Colombia.

E. 17; V. 159; A. 1; Subc. 25/25 + n.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Pardo-palida em cima, com manchas pardo-escuras areoladas de claro, irregulares, em bastonetes, geralmente em uma unica serie sobre o dorso; cabeça pardo-escura; garganta e ventre branco-amarelados.

Comprimento total 395 mm.; cauda 52 mm..

Atractus bocourti Boulenger

No. 171, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Manizales.

E. 17; V. 147; A. 1; Subc. 26/26 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Cinza-arroxeada, com cinco series longitudinais de pintas negras no dorso; u'a mancha negra de cada lado da cabeça, ao nivel do olho; uma entrada branco-amarelada sobre as temporas; ventre branco amarelado, salpicado de negro.

Comprimento total 260 mm.; cauda 28 mm..

Atractus colombianus Prado

No. 174, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Chocontá.

E. 17; V. 149; A. 1; Subc. 29/29 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6/7; T. 1 + 2.

Pardo-olivacea em cima, com uma faixa negra vertebral, a qual, guardando a largura de uma escama, vai da parte nucal à extremidade caudal; extremidade da cauda enegrecida; escamas em geral tarjadas de negro; nos flancos u'a

linha clara, a qual envolve as extremidades das ventrais e a fileira contigua das escamas dorsais; ventre inteiramente negro, luzente.

Comprimento total 362 mm.; cauda 42 mm..

No. 155, jovem ♂, na mesma coleção e da mesma procedencia.

E. 17; V. 144; A. 1; Subc. 29/29 + 1.

Sp. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Côr identica, apenas com o ventre mesclado de branco.

Atractus crassicaudatus (D. & B.)

No. 173, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente desta cidade.

E. 17; V. 160; A. 1; Subc. 21/21 + 1.

Spl. 6 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Cinza-escura, com pequenas manchas branco-amareladas; outra da mesma côr sobre as temporas.

Comprimento total 265 mm.; cauda 25 mm..

No. 158, jovem ♀, na mesma coleção, procedente de Sibaté (Bogotá).

E. 17; V. 150; A. 1; Subc. 29/29 + 1.

Spl. 6 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Colorido identico.

Atractus indistinctus PRADO

No. 166, adulto ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Ocaña.

E. 17; V. 170; A. 1; Subc. 35/35 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Pardo-avermelhada, com um indistinto traço negro vertebral, da nuca à extremidade da cauda; dois outros da mesma côr nos flancos; cabeça negra; labios, garganta e ventre branco-amarelados, porém este ultimo irregularmente manchado de pardo.

Comprimento total 444 mm.; cauda 48 mm..

Atractus longimaculatus PRADO

No. 170, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente do Quindio.

E. 17; V. 166; A. 1; Subc. 21/21 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Castanho-clara, com tres series de manchas negras: 1.ª sobre a linha vertebral, em traço continuo no terço anterior do corpo, e sob a forma de pontilhados largos nos dois terços restantes, 2.ª e 3.ª nos flancos, sob a forma de pontilhados finos; duas faixas negras dos lados da cabeça: uma que vai do angulo posterior do olho à comissura dos labios, outra, paralela a essa, caminha ao nivel das temporas; finalmente, um desenho negro em *V*, de vertice posterior, sobre as parietais, e duas manchas negras: uma sobre a frontal e outra sobre a nuca; partes inferiores amareladas, marchetadas de negro.

Comprimento total 372 mm.; cauda 21 mm.

Atractus manizalesensis Prado

No. 172, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, procedente de Manizales.

E. 15; V. 152; A. 1; Subc. 20/20 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 7; T. 1 + 2.

Castanho em cima, com duas series de manchas negras, guarnecidas de claro, paravertebrais; cabeça manchada de negro; labios, garganta e ventre branco-amarelados, sendo o ultimo salpicado de pardo.

Comprimento total 370 mm.; cauda 31 mm..

No. 157, jovem ♀, na mesma coleção e da mesma procedencia.

E. 15; V. 154; A. 1; Subc. 18/18 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Côr identica.

Atractus melas Boulenger

No. 167, adulto ♂, na coleção do museu do Instituto de La Salle, procedente de Santo Domingo.

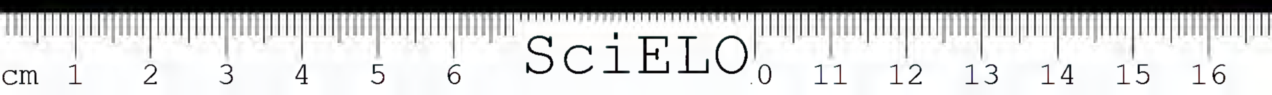
E. 17; V. 157; A. 1; Subc. 5/5 + 9 + 10/10 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 6; T. 1 + 2.

Côr negra, com apenas os labios superiores e a garganta claros, sendo a ultima salpicada de negro, além de duas entradas laterais nas temporas.

Baseia-se a descrição original de Boulenger numa simples femea, procedente de Los Mangos.

Comprimento total 240 mm.; cauda 25 mm..



Gen. SIBYNOMORPHUS FITZINGER

Sibynomorphus sancti-joannis (BOULENGER)

No 168, jovem ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, procedente de Manizales.

E. 15; V. 178; A. 1; Subc. 74/74 + 1.

Spl. 9/8 (4.ª, 5.ª e 6.ª junto ao olho); T. 2 + 3 + 3.

Pardo-chocolate, com faixas brancas guarnecidas de negro.

Possue habitos arboricolas, como verificou Daniel. Na Colombia tem o nome vulgar de "Yaruma tabaca".

Subfam. **Boiginae**

Gen. LEPTODEIRA FITZINGER

Leptodeira annulata (L.)

No. 164, jovem ♀, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá, procedente de Segovia.

E. 21; V. 185; A. 1/1; Subc. 91/91 + 1.

Spl. 9 (5.ª e 6.ª junto ao olho); Infl. 10; T. 2 + 2.

Pardacenta em cima, com uma serie dorsal de grandes manchas pardo-negras, não confluentes, nem formando faixas em ziguezague; outras manchas da mesma côr, laterais, muito pequenas; uma listra pardo-negra por trás de ambos os olhos; ventre uniformemente esbranquiçado. Nicéforo Maria observou habitos noturnos desta serpente, que é chamada de "Manapá", na Colombia.

Gen. CONIOPHANES COPE

Coniophanes fissidens (GÜNTHER)

No. 10.091, jovem ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Jericó, com data de captura: 1931.

E. 21; V. 111; A. 1/1; Subc. 63/63 + 1.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 9; T. 1 + 2.

Colorido muito semelhante ao originalmente descrito. Bocourt afirma que esta especie, pela sua etologia, conjunto de caracteres e coloração, aproxima-se de *Liophis godmani* (GÜNTHER), ofidio da serie aglifa. Este autor reuniu 14 exemplares de *Coniophanes fissidens*, procedentes alguns do Istmo de Tehuantepec, no Mexico, e outros de Attitlan, na Guatemala Ocidental, sendo que estes se diferenciam por uma côr mais sombreada. Na coleção do Instituto Butantan encontra-se um exemplar apenas desta especie, procedente de Honduras, o qual recebeu o No. 762.

Sua distribuição geografica, segundo os autores, restringe-se à America Central, do Panamá ao Mexico. Regista-se, pois, pela primeira vez sua ocorrencia na America do Sul. Afim de melhor determiná-la extrai os ultimos dentes maxilares, donde a certeza inicial de tratar-se realmente de um especime da serie opistoglifa.

Esta serpente, habitando, de preferencia, os logares humidos situados nas proximidades dos cursos dagua, parece nutrir-se de pequenos batraquios.

RESUMO

Trata-se de uma breve noticia de cada uma das serpentes que foram enviadas da Colombia, no periodo de 1938-1939.

São as seguintes as especies examinadas: *Constrictor constrictor, Boa annulata, Boa hortulana cookii, Helicops angulata, Eudryas boddaertii, Drymarchon corais corais, Lygophis lineatus, Liophis cobella, Liophis undulatus, Xenodon colubrinus. Atractus arangoi, Atractus bocourti, Atractus colombianus, Atractus crassicaudatus, Atractus indistinctus, Atractus longimaculatus, Atractus manizalesensis, Atractus melas, Sibynomorphus sancti-joannis, Leptodeira annulata* e *Coniophanes fissidens.*

ABSTRACT

This paper contains a brief report on each of the snake specimens received from Columbia during 1938-1939.

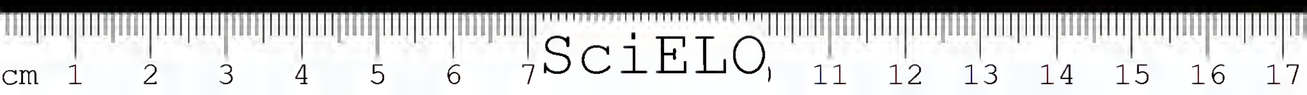
The following species have been examined: *Constrictor constrictor, Boa annulata, Boa hortulana cookii, Helicops angulata, Eudryas boddaertii, Drymarchon corais corais, Lygophis lineatus, Liophis cobella, Liophis undulatus, Xenodon colubrinus, Atractus arangoi, Atractus bocourti, Atractus colombianus, Atractus crassicaudatus, Atractus indistinctus, Atractus longimaculatus, Atractus*

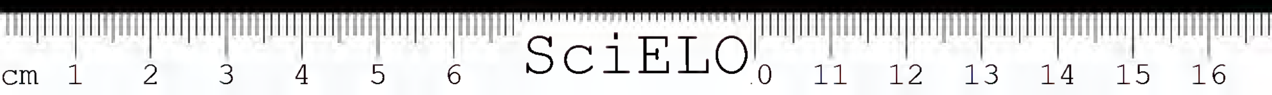
manizalesensis, Atractus melas, Sibynomorphus sancti-joannis, Leptodeira annulata and *Coniophanes fissidens.*

BIBLIOGRAFIA

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 1-3.1893/96.
Amoral, A. do — Mem. Inst. Butantan 4:3, 127.1930.
Maria, Hno. N. — Rev. Soc. Colombiana 19:106.1930.
Daniel, Hno. — Rev. Acad. Colombiana 2(8):594.1938/39.
Prado, A. — Mem. Inst. Butantan 13:15.1939.

(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, lido no Clube Zoologico do Brasil, na sessão de 13-IX-39. Dado à publicidade em agosto de 1940).




SciELO

598.121:591.986

NOTAS OFIOLOGICAS

6. Uma nova especie de Colubrideo aglifo da Colombia

POR

ALCIDES PRADO

A especie que ora descrevo como nova, *Dipsas niceforoi*, sp. n., possue como as demais do genero *Dipsas*, entre outros caracteres, dois ou mais pares de infralabiais em contacto, na linha mediana, por trás da sinfisial.

Muitos autores separam as especies de *Dipsas* das de *Sibynomorphus*, pela ausencia de dentes pterigoideos naquelas e presença dos mesmos nestas ultimas.

Assim é que Mocquard e Amaral incluem no genero *Dipsas*, as especies *Dipsas albifrons* (SAUVAGE) e *Dipsas variegata* (D. & B.), outrora colocadas no genero *Sibynomorphus* (= *Leptognathus*).

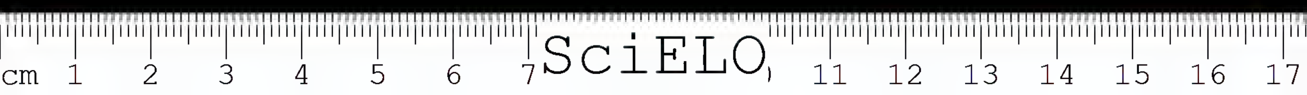
Parker, examinando especimes do Museu Britanico, confirmou a ausencia de dentes pterigoideos em *Dipsas albifrons*, enquanto que, em dois exemplares de *Dipsas variegata*, um não os possuia e outro os tinha em numero de tres para cada osso.

Refere-se à sua *Dipsas trinitatis*, que os tem em numero de dois ou tres para cada pterigoideo, e à de Amaral, *Dipsas neivai*, que os não possue, sendo ambas muito proximas a *Dipsas variegata*.

Conclue dizendo que a presença ou a ausencia de dentes pterigoideos não servirá para estabelecer distinção entre as especies de *Dipsas* e *Sibynomorphus*, mostrando com *Dipsas variegata*, que ha uma gradação entre os dois generos.

O proprio Amaral a isso não é infenso, quando afirma que, caso se confirme a observação de Parker, o genero *Sibynomorphus* deverá passar para a sinonimia de *Dipsas* que é anterior a êle.

No presente caso, tratando-se de *Dipsas niceforoi*, sp. n., os dentes pterigoideos existem até em numero relativamente elevado, como se poderá constatar da descrição que se segue.



Dipsas niceforoi, sp. n.

♀ — Corpo fortemente comprimido. Cabeça distinta do pescoço. Dentes pterigoideos 10/10. Olho grande; pupila eliptica-vertical.

Rostral pouco mais larga do que alta, dificilmente visivel de cima; nasal semi-dividida; internasais mais largas do que longas, quasi um terço do comprimento das prefrontais; frontal pouco mais larga do que longa, quasi tão longa quanto sua distancia da extremidade do focinho, muito mais curta do que as parietais; frenal pouco mais alta do que longa, junto ao olho; supraocular larga; preocular pequena, acima da frenal: 2/3 postoculares; temporais 2 + 3; 8 supralabiais, 4.ª e 5.ª junto ao olho, 2 ultimas mais longas; 11 infralabiais, 2 primeiros pares em contacto, na linha mediana, por trás da sinfisial; 3 pares de mentais. Escamas lisas, sem depressões apicilares, as vertebrais moderadamente alargadas, em 15. Ventrais 176; anal inteira. Subcaudais 73/73 + 1.

Pardo-palida em cima, com largas faixas pardo-escuras, e com algumas escamas guarnecidas de escuro; cabeça pardo-escura, com uma tenue faixa palida sobre a nuca: garganta e ventre levemente mesclados de pardo, porém, este ultimo, em sua porção anterior é atravessado pelas faixas pardo-escuras do dorso.

Comprimento total 256 mm.; cauda 56 mm..

Holotipo, jovem ♀, sob o No. 165, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá.

Procedencia: Quindío, na Cordilheira Central, Colombia.

Colecionado pelo revmo. irmão Nicéforo Maria, em 1939, a quem o nome da especie é dedicado.

Afim de *Dipsas trinitatis* Parker. Esta, ao contrario de *Dipsas niceforoi*, sp. n., possue: frontal tão longa quanto larga, 2 pares de mentais, maior numero de ventrais e subcaudais.

Seu colorido geral tambem é diferente.

Não se confundirá com *Dipsas pratti* (Boulenger), que ocorre na Colombia, porque esta, além de apresentar no colorido desenhos diversos, tem as seguintes caracteristicas, que a separam de *Dipsas niceforoi*, sp. n.: rostral tão alta quanto larga, visivel de cima; internasais com cerca de metade de comprimento das prefrontais; frontal tão longa quanto larga; frenal mais longa do que alta; 2 pares de mentais.

RESUMO

Refere-se este trabalho, além de comentarios em torno da posição em sistematica dos generos *Dipsas* e *Sibynomorphus* (=*Leptognathus*), à descrição de *Dipsas niceforoi*, sp. n., que ocorre na Colombia, sendo a mesma afim de *Dipsas trinitatis* Parker.

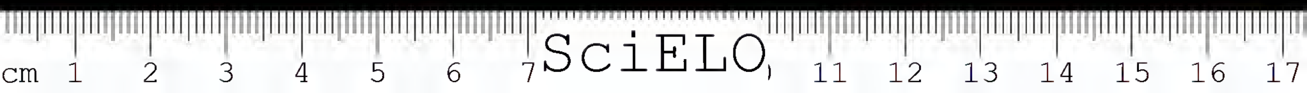
ABSTRACT

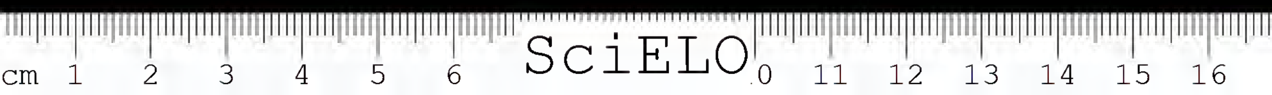
This work deals in first place with the systematic position of the genera *Dipsas* and *Sibynomorphus* (=*Leptognathus*), and in second place with the description of *Dipsas niceforoi*, n. sp., which occurs in Columbia, being similar to *Dipsas trinitatis* PARKER.

BIBLIOGRAFIA

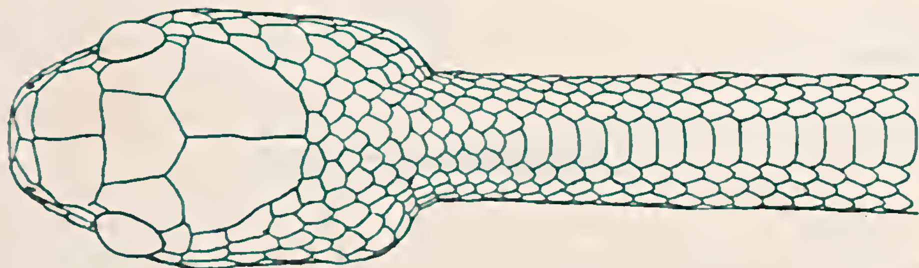
Duméril & Bibron — Erp. Gen. **7**:477.1854.
Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. **3**:447.1896.
Boulenger, G. A. — Ann. & Mag. Nat. Hist. (6)**20**:523.1897.
Macquard — Miss. Sc. Mex. **3**:896.1909.
Amaral, A. do — Arch. Mus. Nac. **26**:108.1926.
Parker, H. W. — Ann. & Mag. Nat. Hist. (9)**18**:205.1926.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan **10**:127.1935/36.

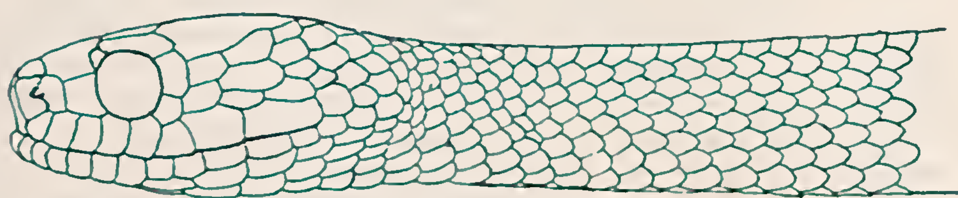
(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, entregue para publicação em maio de 1940. Dado à publicidade em agosto de 1940).



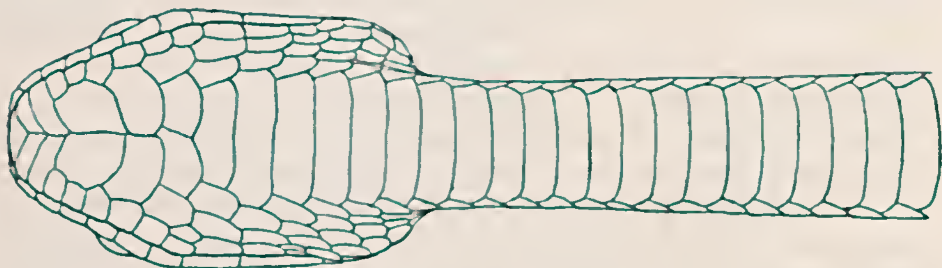

SciELO

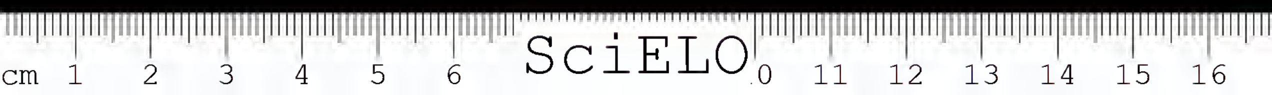
Mem. Inst. Butantan
Vol. XIV — 1940





Dipsas nicefori, sp. n.




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

598.121

NOTAS OFIOLOGICAS

7. Sobre a determinação de *Elapomorphus trilineatus* Boulenger e afins

POR

ALCIDES PRADO

O genero *Elapomorphus* Weigmann, constituido de formas subterraneas, é, no dizer de Amaral e outros especialistas, suscetível de revisão.

Amaral mesmo, na sua Lista Remissiva dos Ofidios do Brasil, publicada em 1935-1936, coloca as especies *Elapomorphus lemniscatus* D. & B. e *Elapomorphus trilineatus* Boulenger, na sinonimia de *Elapomorphus bilineatus* D. & B.

Em fins de 1939 deram entrada no Instituto, procedentes de Cacequí, no Rio Grande do Sul, dois exemplares, um adulto e outro jovem, de uma especie que determinei como *Elapomorphus trilineatus*. Dessa forma, pude estudá-las comparativamente com outra, de procedencia ignorada, que considerei como *Elapomorphus lemniscatus*. Infelizmente, não tive em mãos nenhum especime de *Elapomorphus bilineatus*, forma que, ao contrario de *Elapomorphus trilineatus*, parece ocorrer mais frequentemente na Argentina do que naquele Estado do sul do Brasil.

A especie *Elapomorphus trilineatus*, de cujos dois exemplares me servi para observação, como suas afins, possue uma simples prefrontal; entretanto, como pude notar, nela as internasais apenas se tocam por trás da rostral, não formando assim, entre si, uma sutura mediana.

Pela chave de Boulenger, publicada em seu catalogo, vol. 3, 1896, observa-se que, neste particular, esta ultima aproxima-se de *Elapomorphus bilineatus*.

Como verifiquei na *Elapomorphus lemniscatus*, de minha determinação, as internasais formam aí uma sutura completa por trás da rostral, detalhe que está a concordar com as caracteristicas contidas na chave de Boulenger.

Quanto ao colorido geral, pelo que consegui vêr, entre os exemplares de *Elapomorphus lemniscatus* e *Elapomorphus trilineatus*, a difirença é bastante sensivel, sendo que no primeiro êle assim se mostra (Fig. 1): avermelhado em

cima, sem lista negra vertebral; cabeça enegrecida, com um colar amarelado occipital; uma faixa negra, em barra, na base da cauda; escamas laterais, placas ventrais e subcaudais negras, porém debruadas de claro. No segundo o colorido assim se apresenta (Fig. 2): alaranjado em cima, com tres faixas negras longitudinais, uma vertebral e duas outras laterais, sendo que as escamas negras que as formam têm seus bordos palidescentes; cabeça negra, com duas entradas amareladas, dos lados, sobre o occipicio; uma faixa negra transversal na base da cauda; ventrais e subcaudais quasi inteiramente negras.

Ao passo que Boulenger dá para *Elapomorphus bilineatus* o colorido mais ou menos seguinte: pardo-amarelado em cima, com u'a linha negra para cada lado do dorso, entre a 4.ª e 5.ª fileiras de escamas; cabeça enegrecida em cima e abaixo; ventrais e subcaudais enegrecidas, bordadas de branco.

As especies por mim estudadas exibem, ainda, os seguintes caractéres:

Elapomorphus lemniscatus

No. 10.081, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, S. Paulo, com procedencia e data da captura ignoradas.

E. 15; V. 210; A. 1/1; Subc. 24/24 + 1.

Spl. 6 (2.ª e 3.ª junto ao olho); Infl. 7; T. 1 + 1.

Comprimento total 520 mm.; cauda 44 mm.

Elapomorphus trilineatus

No. 10.082, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, S. Paulo, procedente de Cacequí, Rio Grande do Sul, Brasil, com data de recebimento: 8-XI-39.

E. 15; V. 203; A. 1/1; Subc. 23+23+1.

Spl. 6 (2.ª e 3.ª junto ao olho); Infl. 7; T. 1+1.

Comprimento total 530 mm.; cauda 37 mm..

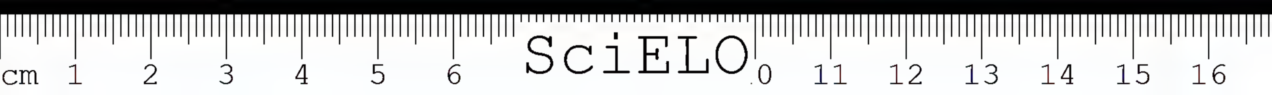
No. 10.083, jovem ♂, na mesma coleção, procedencia e data de recebimento identicas às do exemplar anterior.

E. 15; V. 203; A. 1/1; Subc. 25/25+1.

Spl. 6 (2.ª e 3.ª junto ao olho); Infl. 7; T. 1+1.

RESUMO

Parece haver elementos bastante para fazer-se a separação entre as especies *Elapomorphus lemniscatus* D. & B., *Elapomorphus trilineatus* Boulenger e *Elapomorphus bilineatus* D. & B., fato que concorda com o primitivamente estabelecido por Boulenger, no seu Catalogo, volume 3, ano 1896.



Elapomorphus lemniscatus distingue-se de suas afins, *Elapomorphus trilineatus* e *Elapomorphus bilineatus*, pela formação de uma sutura mediana entre as internasais, por trás da rostral.

Elapomorphus trilineatus e *Elapomorphus bilineatus*, diferenciam-se entre si, pelas internasais que, na primeira, apenas se tocam por trás da rostral, e na segunda pela sua completa separação, motivada pelo avanço da rostral, além das divergencias bem acentuadas relativas à folidose e colorido.

ABSTRACT

There seem to exist sufficient data to justify a separation of the species *Elapomorphus lemniscatus* D. & B., *Elapomorphus trilineatus* BOULENGER and *Elapomorphus bilineatus* D. & B.; this separation agrees with Boulenger's Catalogue Vol. **3**, 1896.

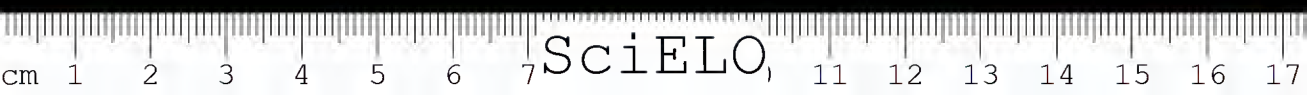
Elapomorphus lemniscatus is distinguished from the similar species, *Elapomorphus trilineatus* and *Elapomorphus bilineatus*, by the shape of the median suture between the internasals, behind the rostral.

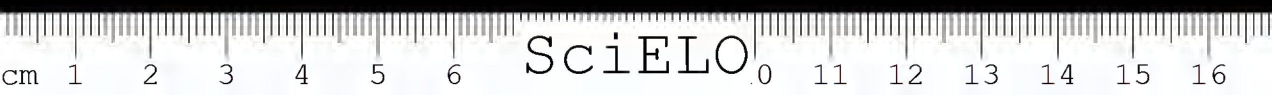
Elapomorphus trilineatus and *Elapomorphus bilineatus* are distinguished by the internasals which in the former touch each other only behind the rostrals, whereas in the latter they are completely separated by the projection of the rostral, and by other pronounced differences as to the pholidosis and colouring.

BIBLIOGRAFIA

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. **3**:239-243.1896.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan **4**:47,223.1930.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan **10**:145.1935/36.

(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, entregue para publicação em maio de 1940. Dado à publicidade em agosto de 1940).




SciELO

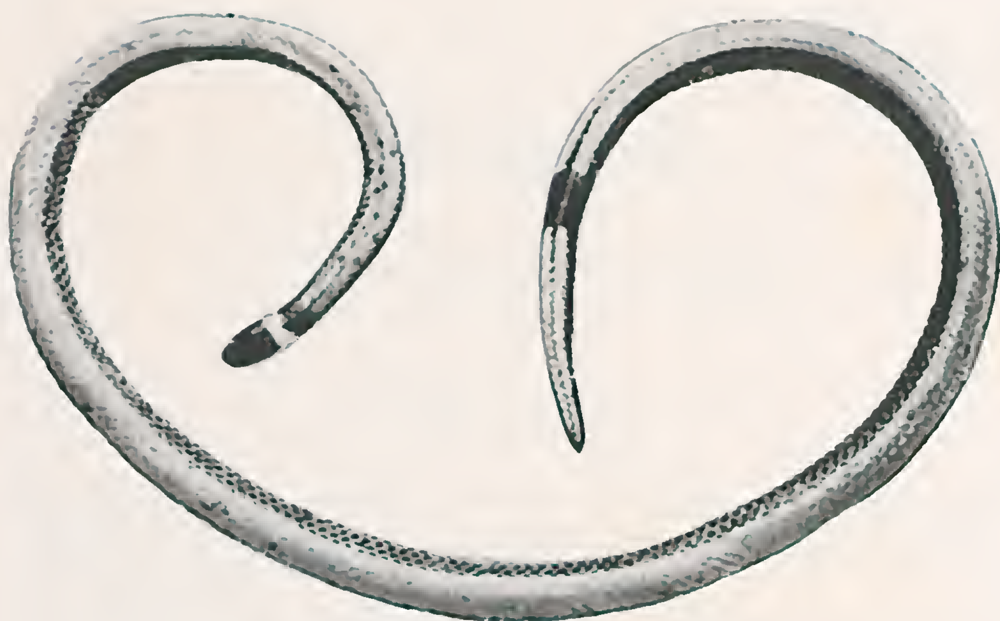
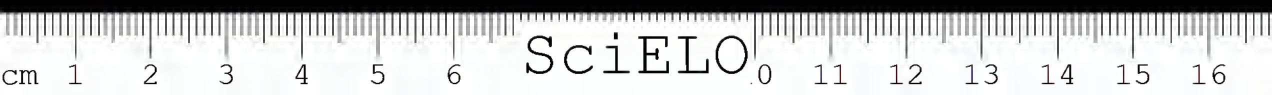


Fig. 1 — *Elapomorphus lemniscatus* D. & B.



Fig. 2 — *Elapomorphus trilineatus* BOULENGER


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

598.121:591.986

NOTAS OFIOLOGICAS

8. Dois novos *Atractus* da Colombia

POR

ALCIDES PRADO

Entre os ofidios remetidos ha pouco da Colombia pelo revmo. irmão Nicéforo Maria, dois, pertencentes ao genero *Atractus*, me pareceram novos. Os demais foram assim determinados:

Helminthophis anops COPE, *Helminthophis praecularis* AMARAL, *Eudryas boddaertii* (SENTZEN), *Lygophis taeniurus albiventris* (JAN), *Lygophis taeniurus bipraeocularis* (BOULENGER), *Urotheca lateristriga* BERTHOLD, *Atractus badius* (BOIE), *Atractus longimaculatus* PRADO, *Atractus manizalesensis* PRADO, *Sibynomorphus mikanii oreas* (COPE) e *Pseudoboa cloelia* (DAUDIN).

Atractus vertebrolineatus, sp. n.

[illegible] — Focinho arredondado. Rostral mais larga do que alta, pouco visivel de cima; internasais pequenas, tão largas quanto longas; prefrontais tão largas quanto longas; frontal tão larga quanto longa, quasi tão longa quanto sua distancia da extremidade do focinho, muito mais curta do que as parietais; frenal cerca de 2 vezes tão longa quanto alta; 2 postoculares; temporais 1 + 2; 7 supralabiais, 3.ª e 4.ª junto ao olho; 3 infralabiais em contacto com a mental respectiva de um unico par.

Escamas lisas, sem depressões apicilares, em 17. Ventrais 159; anal inteira; subcaudais 46/46 + 1.

Castanho-parda em cima, com uma lista cinza-escura sobre a linha vertebral, a qual é ladeada por pontilhados negros; duas faixas largas da mesma côr, de ambos os lados, nos flancos; cabeça enegrecida; labios e garganta branco-

amarelados; ventre branco-amarelado, manchado de pardo, e com sua porção caudal fortemente manchada da mesma côr, ao centro.

Comprimento total 296 mm.; cauda 48 mm..

Holotipo, adulto ♂, sob o No. 184, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá.

Procedencia: Ocaña, ao norte de Bucaramanga, Colombia.

É uma forma de *Atractus* com escamas dorsais em 17, e onde tambem se inclue o *Atractus crassicaudatus* (D. & B.).

É proxima a *Atractus loveridgei* AMARAL, que tem como diferenças especificas as seguintes: rostral tão larga quanto alta, prefrontais mais longas do que largas, frenal quasi 3 vezes tão longa quanto alta, subcaudais 18 pares, e côr pardo-oliva em cima com 6 linhas negras longitudinais.

Atractus biseriatus, sp.n.

♂ — Focinho obtuso. Rostral pequena, mais larga do que alta, pouco visivel de cima; internasais tambem pequenas, tão largas quanto longas; prefrontais grandes, tão largas quanto longas; frontal pouco mais longa do que larga, tão longa quanto sua distancia da extremidade do focinho, mais curta do que as parietais; frenal cerca de 2 vezes tão longa quanto larga; 2 postoculares; temporais 1 + 2; 7 supralabiais, 3.ª e 4.ª junto ao olho; 3 infralabiais em contacto com a mental respectiva de um unico par.

Escamas lisas, sem depressões apicilares, em 15. Ventrais 148; anal inteira; subcaudais 18/18 + 1.

Pardo-escura em cima, com duas series de manchas claras paravertebrais, às vezes confluentes; cabeça da côr geral, desmaiada nas temporas e focinho; ventre branco-amarelado, salpicado de pardo, e com sua porção caudal fortemente manchada dessa côr.

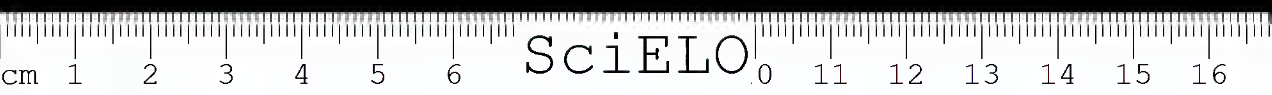
Comprimento total 237 mm.; cauda 19 mm..

Holotipo, adulto ♂, sob o No. 187, na coleção do museu do Instituto de La Salle, Bogotá.

Procedencia: Manizales, Colombia.

Esta especie pertence ao grupo de *Atractus* com escamas dorsais em 15. Entre as formas colombianas, ela é afim de *Atractus reticulatus* BOULENGER, *Atractus nicefori* AMARAL, *Atractus punctiventris* AMARAL, e *Atractus manizalesensis* PRADO, que oferecem os seguintes caracteres distintivos:

Atractus reticulatus: focinho arredondado, frontal pouco mais larga do que longa, 4 infralabiais em contacto com a mental respectiva côr pardo-palida com escamas bordadas de pardo-negro;



Atractus niceforoi: frontal tão larga quanto longa, frenal 2 vezes e meia tão longa quanto alta, côr plumbeo-cinza com as bordas das escamas paraventrais claras;

Atractus punctiventris: frontal tão larga quanto longa, frenal 3 vezes tão longa quanto alta, côr castanho-clara com uma serie paravertebral de manchas negras tarjadas de claro, e ventre esbranquiçado com uma estria negra mediana;

Atractus manizalesensis: frontal tão larga quanto longa, frenal 2 vezes e meia tão longa quanto alta, côr castanha em cima, com duas series de manchas negras paravertebrais orladas de claro, ventre branco-amarelado apenas salpicado de pardo.

RESUMO

São aqui descritas duas formas novas de *Atractus*: *Atractus vertebrolineatus*, sp.n. e *Atractus biseriatus*, sp.n., a primeira afim de *Atractus loveridgei* AMARAL, e a segunda de *Atractus reticulatus* BOULENGER, *Atractus niceforoi* AMARAL, *Atractus punctiventris* AMARAL, e *Atractus manizalesensis* PRADO.

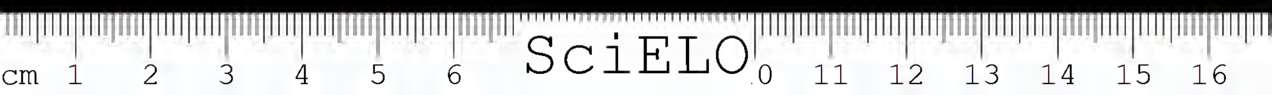
ABSTRACT

A description is given of two new species of *Atractus*: *Atractus vertebrolineatus*, n.sp. and *Atractus biseriatus*, n.sp., the former being similar to *Atractus loveridgei* AMARAL, and the latter to *Atractus reticulatus* BOULENGER, *Atractus niceforoi* AMARAL, *Atractus punctiventris* AMARAL, and *Atractus manizalesensis* PRADO.

BIBLIOGRAFIA

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 2:300.1894.
Amaral, A. do — Bull. Antiv. Inst. America 4:27.1930/31.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan 7:105.1932.
Prado, A. — Mem. Inst. Butantan 31:15.1939.

(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, entregue para publicação em julho de 1940. Dado à publicidade em agosto de 1940).

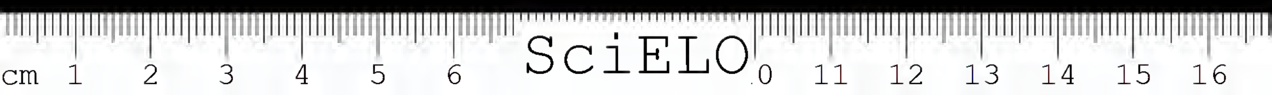

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



Atractus vertebrolineatus, sp. n.



Atractus biseriatus, sp. n.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

598.121:591.157

NOTAS OFIOLOGICAS

9. Duas cascaveis albinas do Brasil

POR

ALCIDES PRADO & FERNANDO PAES DE BARROS

No tocante à variação do colorido nas serpentes, os casos de albinismo apresentam-se como os mais interessantes e raros.

Amaral verificou em cascaveis do Brasil, quatro casos de albinismo, tres em 1927, e um em 1934. Estes de diferentes modalidades, o albinismo no ultimo se nos afigurava total.

Ocorrencias semelhantes têm dado origem a confusões. Gloyd, em 1936, teve ocasião de, pelo exame dos respectivos tipos, considerar *Crotalus pulvis* DITMARS, encontradiço na Nicaragua, por muitos tido como um albino de *Crotalus terrificus* (LAUR.), como identico a *Crotalus unicolor* VAN LIDTH DE JEUDE, da ilha de Aruba, especie que o autor revalida.

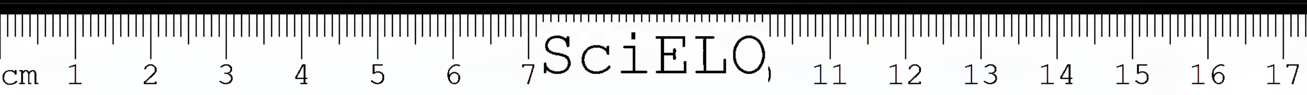
O presente registo refere-se a dois casos de albinismo verdadeiro, constatados em cascaveis, *Crotalus terrificus* (LAUR.), procedente um do Estado de S. Paulo e outro de Santa Catarina.

Neles a ausencia de melanina é total, não se constatando nem traços da mesma, quer na péle da cabeça, dorso e cauda, quer nos olhos. Ambos os exemplares chegaram vivos ao Instituto Butantan.

Eis, os dois casos referidos:

No. 10.141, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Palmar, Estado de S. Paulo, com data de recebimento: 28-2-940. (Fig. 1).

Focinho curto. Rostral quasi tão alta quanto larga, em contacto com a nasal anterior; internasais interceptadas ao meio por uma estreita placa; prefrontais mais longas e mais largas do que as precedentes; supraoculares grandes, algum tanto rugosas, separadas entre si por 2 series longitudinais de escamas escutiformes; 2 preoculares; 4 series de escamas entre o olho e as supralabiais;



estas em numero de 14; infralabiais em igual numero. Escamas fortemente carinadas, em 27. Ventrais 175; anal inteira; subcaudais 23.

Branco-amarelada em cima, com desenhos rombicos amarelo-avermelhados, orlados de branco; ocipicio e pescoço com duas listras paralelas da mesma côr; partes laterais e inferiores e cauda inteiramente brancas.

Comprimento total 815 mm.; cauda 72 mm..

No. 10.142, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Barra Bonita, Estado de Santa Catarina, com data de recebimento: 13-5-940 (Fig. 2).

Focinho curto. Rostral quasi tão alta quanto larga, em contacto com a nasal anterior; internasais um terço do comprimento das prefrontais; supraoculares grandes, separadas entre si por 3 series longitudinais de escamas escutiformes; 2 preoculares, as quais são separadas da nasal posterior por 1 serie de escamas; 4 series de escamas entre o olho e as supralabiais; estas em numero de 14/15; 15 infralabiais. Escamas fortemente carinadas, em 27. Ventrais 167; anal inteira; subcaudais 27.

Côr identica à da forma anterior.

Comprimento total 1.035 mm.; cauda 120 mm..

RESUMO

Refere-se o presente trabalho ao registo de duas cascaveis albinas do Brasil. São dois exemplares em que o albinismo se apresenta total, não se verificando traços de melanina quer na pele, quer nos olhos.

ABSTRACT

The present paper deals with the record of two albino rattlesnakes of Brazil. Both specimens present a total albinism, no traces of melanin having seen, neither on the skin, nor in the eyes.

BIBLIOGRAFIA

Amaral, A. do — Rev. Mus. Paulista **15**:55.1927.
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan **8**:151.1933/34.
Gloyd, H. K. — Herpt. **1**:65.1936.

(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan, publicado in "Ciencia" 1.1940. Dado à publicidade em agosto de 1940).



Fig. 1

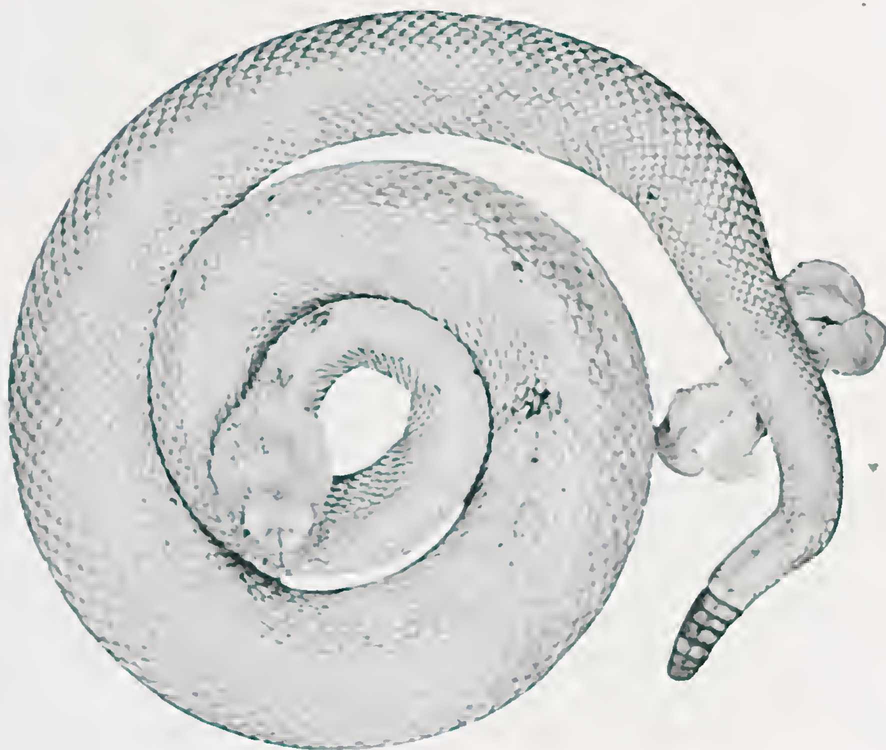
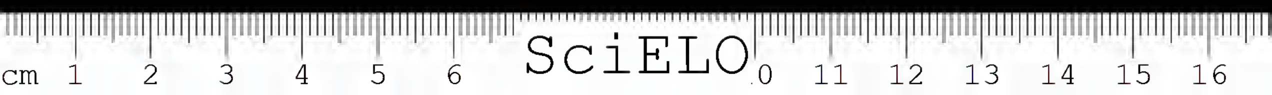


Fig. 2



598.121:591.986

NOTAS OFIOLOGICAS

10. Outras serpentes da Colombia, com a descrição de uma nova especie de Boideo

POR

ALCIDES PRADO

A fauna ofidica da Colombia, muitissimo rica, mereceu sempre da parte dos pesquisadores grande atenção.

Nestas notas, estão enfeixadas as observações sobre o ultimo lote de serpentes daquele país, remetido pelo revmo. irmão Daniel, do Colegio de S. José, de Medellin.

Procedem todos os exemplares dessa localidade e seus arredores, donde numerosos especimes enriquecem a coleção ofiologica do Instituto Butantan.

Fam. **Boidae**

Subfam. **Boinae**

Gen. UNGALIOPHIS Müller

Ungaliophis danieli, sp. n.

♂ — Cabeça distinta do pescoço. Rostral triangular, pouco mais larga do que alta, visivel de cima; nasal tripartida; prefrontal simples, subcordiforme, pouco mais larga do que longa; frontal subtriangular, tão larga quanto longa, mais estreita do que a prefrontal; supra-oculares largas, menos largas do que a frontal; parietais quasi indistintas; frenal pequena, com os lados desiguais, pouco mais longa do que alta; preoculares grandes, atingem o alto da cabeça e tocam a frontal; duas postoculares; temporais indistintas; 9 supralabiais, 4.ª, 5.ª e 6.ª em contacto com o olho; 9 infralabiais; sulco gular profundo, guarnecido por esca-

mas maiores. Escamas moderadas, lisas, em 19. Ventrais 226; anal inteira; subcaudais 41.

Castanho-palida, com duas series longitudinais alternadas, de manchas ovais, pardo-escuras, em cima; na linha vertebral e nos lados, manchas da mesma côr, ora lineares, ora arredondadas ou ovais; alto da cabeça com duas listras sagitais pardo-escuras, paralelas, que se perdem ao nivel do pescoço; uma barra transversal à altura da frontal; outra de igual colorido, partindo do olho atrás, encurva-se para articulação mandibular; ventre manchado de pardo-escuro e, de espaço a espaço, pontuações grandes da mesma côr, alternadas.

Comprimento total 485 mm.; cauda 60 mm..

Holotipo, jovem ♂, sob o No. 189, na coleção do museu do Colegio de S. José, de Medellin, Colombia, com data de captura: outubro, 1938.

Procedencia: Andes, a sudoeste de Antioquia.

Colecionado pelo revmo. irmão Daniel, diretor daquele museu e distinto naturalista, a quem o nome da especie é dado em homenagem.

O genero *Ungaliophis*, de Müller, era considerado monotipico e possuia como seu representante a especie *Ungaliophis continentalis* Müller, com ocorrencia na America Central.

Ungaliophis continentalis Müller, distingue-se de *Ungaliophis danieli*, sp. n. por possuir os seguintes caracteres estruturais e de colorido: rostral mais alta do que larga; prefrontal tão larga quanto longa; frenal tão longa quanto alta; 10 supralabiais, 4ª. e 5ª. em contacto com o olho; escamas em 25; côr geral pardo-cinza-palida, com desenhos negros sobre o dorso, partes laterais, cabeça e ventre.

Fam. **Colubridae**

Subfam. **Colubrinae**

Gen. MASTIGODRYAS Amaral

Mastigodryas danieli Amaral

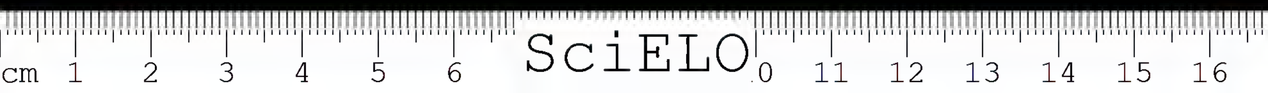
No. 10.150, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Medellin, com data de recebimento: agosto, 1940.

E. 17; V. 170; A. 1/1; Subc. 89/89 + 1.

Spl. 9 (4.ª, 5.ª e 6.ª junto ao olho); Infl. 10; T. 2 + 2.

Comprimento total 1.004 mm.; cauda 264 mm..

Como a especie tipo, tem esta as caracteristicas seguintes: 5 infralabiais em contacto com a mental anterior respectiva, que é um terço do comprimento da posterior.



Côr, igualmente, identica: pardo-azulada, mais ou menos uniforme por todo o corpo, apenas mais clara na face ventral.

Procedencia: a mesma da especie tipo.

Gen. CHIRONIUS Fitzinger

Chironius melas (Cope)

No. 188, jovem ♀, na coleção do museu do Colegio de S. José, de Medellin, Colombia, procedente de Yarumal, com data de captura: julho, 1939.

E. 10; V. 153; A. 1/1; Subc. 152/152 + 1.

Spl. 9 (4.ª, 5.ª e 6.ª junto ao olho); Infl. 9; T. 1 + 2.

Pardacenta em cima, com manchas transversais enegrecidas; cabeça marchetada de negro; labios e ventre branco-amarelados.

Amaral coloca-a na sinonímia de *Ch. fuscus* (L.).

Conservo-a separada daquela, pelas diferenças apreciaveis na anal que é dividida, e nas escamas dorsais que são lisas, ao contrario do que se verifica em *Ch. fuscus*.

Gen. LYGOPHIS Fitzinger

Lygophis taeniurus bipraeocularis (Boulenger)

No. 10.149, jovem ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Medellin, Colombia, com data de recebimento: agosto, 1940.

E. 17; V. 126; A. 1/1; Subc. 37/37 + n.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 12/11; T. 1 + 2.

Apesar do numero pouco elevado das ventrais, com 8 supralabiais ao invés de 7, e com apenas 1 preocular, não pude deixar de colocá-lo debaixo desta denominação, levando, para isso, em conta o colorido geral e os caracteres estruturais que me pareceram importantes.

Gen. XENODON Günther

Xenodon colubrinus Günther

No. 10.143, jovem ♀, na coleção do Instituto Butantan, procedente do Medellin (rio Medellin), com data de captura: março, 1940.

E. 19; V. 147; A. 1; Subc. 43/43 + 1

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 10; T. 1 + 2.

Especie muito proxima a *Xenodon suspectus* COPE, quer pelos caracteres estruturais, quer pelo colorido geral, porem com area de dispersão diversa desta ultima.

Gen. UROTHECA BIBRON

Urotheca elapoides euryzona (COPE)

No. 10.145, jovem ♀, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Yarumal, com data de captura: julho, 1939.

E. 17; V. 146; A. 1/1; Subc. 90/90 + 1.

Spl. 8 (4.ª e 5.ª junto ao olho); Infl. 9; T. 1 + 2.

Negra em cima, com estreitissimas linhas transversais palidas e equidistantes; essas linhas transformam-se em faixas irregulares, no ventre; pontilhados palidos se distribuem sobre a cabeça. Esta descrição do colorido se ajusta à de Boulenger.

Subfam. **Boiginae**

Gen. PSEUDOBOA SCHNEIDER

Pseudoboa petola (L.)

Pseudoboa rhombifera (D. & B.)

Nos. 10.146 e 10.147, respectivamente, na coleção do Instituto Butantan, procedentes de Andes, ambas com data de captura: outubro, 1938.

Especies de ocorrencia mais ou menos comum na região neotropica, porem com pouca referencia quanto a este país (Colombia).

Gen. STENORHINA DUMÉRIL & BIBRON

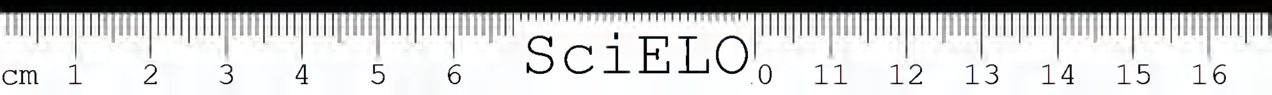
Stenorhina degenhardtii (BERTHOLD)

No. 10.144, jovem ♀, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Yarumal, com data de captura: julho, 1939.

E. 17; V. 145; A. 1/1; Subc. 37/37 + 1.

Spl. 7 (3.ª e 4.ª junto ao olho); Infl. 7; T. 1 + 2.

Castanho-oliva, com manchas pardo-escuras, irregulares, bordadas de negro e cercadas de uma aureola clara; ventre mais ou menos manchado de negro, em tudo semelhante ao que descreve Boulenger para sua forma A.



Gen. ERYTHROLAMPRUS WAGLER

Erythrolamprus aesculapii (L.)

No. 10.148, adulto ♂, na coleção do Instituto Butantan, procedente de Andes, com data de captura: outubro, 1938.

Especie neotropica de larga distribuição, inclusive Colombia.

RESUMO

São examinadas neste trabalho varias especies de serpentes, inclusive um novo Boideo, *Ungaliophis danieli*, sp. n., afim de *Ungaliophis continentalis* MÜLLER.

ABSTRACT

Several species of snakes are being examined in this paper, inclusively a new *Boidae*, *Ungaliophis danieli*, n. sp., similar to *Ungaliophis continentalis* MÜLLER.

BIBLIOGRAFIA

Duméril, M. A. & Bocourt, M. — Miss. Sc. Mex. 2:522.1870.

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 1:114.1893.

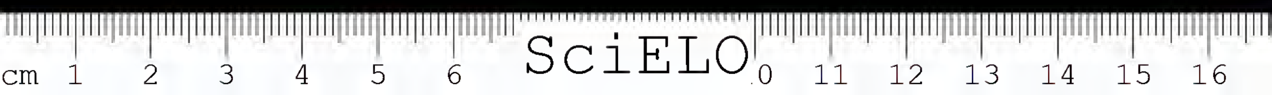
Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 2:182.1894.

Boulenger, G. A. — Cat. Sn. Brit. Mus. 3:207,216.1896.

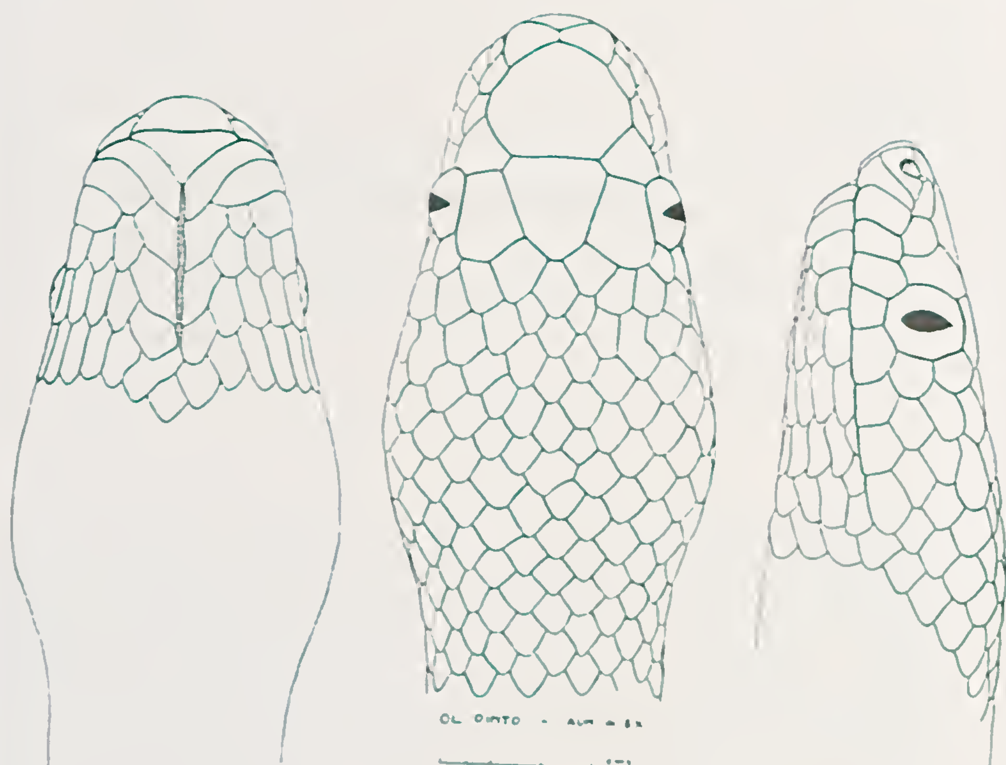
Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan 4:81,127,145,177.1930.

Amaral, A. do — Mem. Inst. Butantan 8:157.1933/34.

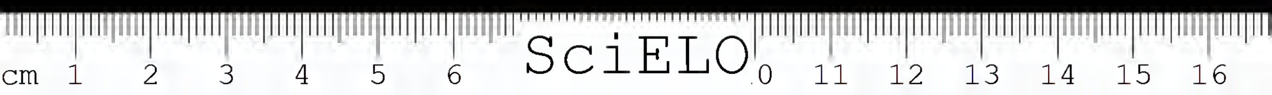
(Trabalho da Secção de Ofiologia e Zoologia Medica do Instituto Butantan. Entregue para publicação em agosto de 1940 e dado á publicidade em outubro de 1940).


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. XIV — 1940






SciELO

593.1:616.961

PROTOZOARIOS PARASITAS

IV. Protozoarios novos de tapirideos

POR

FLAVIO DA FONSECA

Os protozoarios descritos na presente nota provêm do exame de material colhido de um exemplar de *Tapirus* da especie clara, de tamanho medio, provavelmente *Tapirus roulinus*, conhecida pelo nome vulgar de "anta sapateira", denominação esta que lhe dão os caçadores devido à conformação alongada dos dedos, em oposição à fórma curta observada na especie negra e maior, o *Tapirus americanus*. Esta anta, capturada muito jovem em S. Romão, Pirapora, Estado de Minas Gerais, foi-nos remetida pelo missionario Frei Bertholdo von Mee, ao qual somos muito grato, tendo chegado a Butantan com cerca de tres meses de idade. Sómente um ano após sua chegada, ao serem feitos pela primeira vez exames de fezes, foi observado o parasitismo pelos protozoarios abaixo descritos, sendo de notar que a saude e desenvolvimento do animal têm sido excelentes, apesar de mantido nos ultimos seis meses em um simples "box" da coudelaria do Instituto.

Queremos ainda assinalar que o *Tapirus* em questão, durante os primeiros meses que sucederam à sua chegada, foi conservado no bioterio geral do Instituto, onde existem cerca de dois a tres mil cobaias, coelhos e ratos, animais estes tambem parasitados por varias especies pertencentes aos mesmos generos. Tivemos, por exemplo, ocasiões de encontrar no bioterio do Instituto Butantan *Endamoeba cobayae* (WALKER), que é frequente em nossas cobaias, ao contrario de *Endolimax caviae* HEGNER (*), que nunca poude ser por nós assinalada; *Endamoeba muris* GRASSI, ocorre tambem na criação de murideos. De ambas estas especies se distingue *Endamoeba dobelli*, sp.n. pela disposição granular e periferica da cromatina nuclear, além de outros caracteres.

(*) *Hegner, R. W.* — The J. of Parasitology *12*:146.1926.

Chilomastix intestinalis Kuszinki, de cobaias, e *Chilomastix bittencourti* O. da Fonseca, de ratos, são tambem especies comuns em nosso bioterio: as respectivas descrições diferem, porém, das da nova especie encontrada. A *Trichomonas caviae* (Davaine), da cobaia, a *Trichomonas muris* (Galli-Valerio), de ratos, ambas especies já por nós observadas em animais do Instituto, bem como às varias outras especies parasitas de ratos que já têm sido descritas, só forçadamente poderia ser identificada a n.sp. *Trichomonas navasi*, que é facilmente cultivavel, ao contrario de *Trichomonas muris*, e cuja membrana ondulante só dificilmente se deixa corar.

As descrições são feitas de esfregaços de fezes corados pela hemoteina, segundo a tecnica proposta por Gilberto de Freitas nas Memorias do Instituto Oswaldo Cruz *31*(3):707.1936.

Endamoeba dobelli, sp. n.

(Figs. 1 e 2)

Forma vegetativa (Fig. 1) — Dimensões variando de cerca de 8µ 5 a 13µ6, nunca sendo visto pseudopodos nos exemplares fixados. Protoplasma finamente granuloso, às vezes vacuolar ou com granulações maiores, sem diferenciação entre endo- e ectoplasma, às vezes com inclusões, frequentemente com um grande vacuolo, incluindo uma grande bacteria com forma de *Coccus* (*Sarcina?*). Não raro o protoplasma apresenta vacuolos, geralmente em pequeno numero. Nucleo de contorno nem sempre perfeitamente circular, de tamanho proporcional ao da ameba, oscilando em geral de 2 a 2µ5. Cromatina periferica dispondo-se em granulos junto à membrana nuclear. Cariosoma central ou sub-central, circular ou ligeiramente alongado, com 1/3 a 1/16 do diametro do nucleo, parecendo menor nos exemplares mais diferenciados.

Cistos (Fig. 2) — Cistos uninucleados, com cerca de 4µ25 a 7µ, de contorno circular, com membrana protoplasmatica fina, protoplasma condensado e com granulações não raro volumosas. Nucleo igual ao da forma vegetativa, variando o tamanho de 1µ7 a 2µ5, sendo, portanto, às vezes extremamente volumoso em relação ao tamanho da ameba. E' interessante assinalar que os granulos cromaticos, tanto nos cistos quanto nas formas vegetativas, quasi nunca se encontram em toda a volta da membrana nuclear.

Dos tres protozoarios que ocorriam no mesmo animal eram o *Eutrichomastix* e a nova *Endamoeba* os mais abundantes, sendo vistos às vezes duas ou tres amebas no mesmo campo examinado com objetiva de imersão.

Cultura — Semeadas as fezes em meio ovomucoide de Hogue, tendo em vista a obtenção de cultura dos flagelados, desenvolveram-se tambem as

Endamebas, apresentando-se a maioria encistada. Formas vegetativas foram, entretanto, vistas mesmo em culturas de 5 dias. Repicado o material, da 3.ª passagem em meio de Hogue, para meio Löffler + Ringer, segundo Simitch, a cultura de 48 horas apresentou-se rica em formas vegetativas, que se tornam muito moveis quando aquecidas, mas que à temperatura ambiente se imobilizam.

Lamina tipo No. 3433, esfregaço de fezes corado pela hemateina, segundo Gilberto de Freitas, depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Chilomastix navasi, sp. n.

(Fig. 3)

Contorno geralmente periforme e alongado, mais raramente alargado, de extremidade posterior de regra bruscamente afilada. As dimensões oscilam entre 7µ5 e 13µ para o comprimento e 4µ5 e 7µ para a maior largura. O protoplasma apresenta-se muito vacuolado e o citostoma é alongado e aparentemente estrangulado no meio, com labios pouco cromofilos e flagelo aderente à membrana ondulante raras vezes visivel. Nucleo anterior, circular, com 1µ6 a 2µ5 de diametro, sem cariosoma individualizado, vendo-se às vezes alguns granulos cromaticos no seu interior; não ha aglomeração de cromatina periferica, formando calota, como em *Ch. bittencourti* O. DA FONSECA, parasita de ratos, *Ch. intestinalis* KUZINSKI, de *Cavia porcellus* e *Ch. olympioi* F. DA FONSECA, de *Dasyprocta aguti*, *Ch. cuniculi* O. DA FONSECA, de *Oryctolagus cuniculi* e *Ch. mesnili* (WENYON), de *Homo*.

Os flagelos são tres, anteriores e curtos, geralmente com 5µ, raramente com 10µ.

A cultura em meio ovomucoide de Hogue foi negativa, bem como no de Löffler + Ringer, segundo Simitch.

Lamina tipo No. 3380, corado pela hemateina, segundo Gilberto de Freitas, depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Trichomonas tapiri, sp. n.

(Figs. 4, 5 e 6)

A fresco e em esfregaços de fezes apresenta-se o flagelado muito movel, avançando de preferência por entre os detritos, com membrana ondulante estreita, pouco visivel, porém perceptivel graças ao flagelo que a margea em toda a extensão do flagelado e que com ela ondula. Não foi, entretanto, possivel contar os flagelos a fresco, devido ao seu rapido movimento.

Em preparados de fezes corados segundo a tecnica de Gilberto de Freitas (hemateina e diferenciação pelo acido picrico), que tem dado ótimos resultados em nossas mãos, só raras vezes nos foi dado ver elementos identificaveis a *Trichomonas*, apresentando-se sempre a membrana encurtada, como que retraída, conforme mostra a Fig. 4.

Tais elementos mediam 8µ5 X 6µ ou mais frequentemente 12 — 12µ5 X 8 — 12µ5, apresentando fórma eliptica ou quasi circular, um grande nucleo anterior uniformemente corado, com cerca de 3µ5, não tendo sido possivel distinguir o cariosoma, o que talvez seja devido à intensidade com que toma a coloração, tornando dificil a diferenciação dos esfregaços. Um axostilo, largo, sempre de percepção dificil, percorre o corpo e faz saliencia posterior. Os flagelos são quatro, dos quais tres anteriores, muito longos, chegando a atingir 20µ, partindo dois deles de um mesmo granulo basal anterior. Um outro flagelo percorre o bordo externo da membrana ondulante, parecendo ser curto nos esfregaços corados, ao contrario do que se observa a fresco. Tanto quanto foi possivel verificar em flagelados pouco diferenciados, este flagelo se origina do mesmo granulo basal que dá origem ao flagelo isolado anterior. Sempre que foi possivel divisar a membrana ondulante, esta, ao contrario do observado nos preparados a fresco, mostra-se notavelmente encurtada. Não foi possivel ver filamento basal da membrana, sendo frequentes os vacuolos. Um dos exemplares achava-se parasitado por *Sphaerita* DANGEARD, 1886, de disposição concentrica, provavelmente *Sph. minor* CUNHA & MUNIZ, 1923.

A cultura em meio ovomucoide de Hougе foi facilmente obtida, desenvolvendo-se os flagelos em abundancia, permanecendo vivos até mais ou menos um mês depois de semeados, obtendo-se da mesma forma repiques com facilidade. As dimensões do flagelo vivo, em cultura, oscilaram entre 10 e 16µ. Para tirar duvidas porventura existentes sobre a extensão da membrana ondulante e o numero dos flagelos, foi feita a observação ultramicroscopica de uma cultura da 2.ª repicagem com 6 dias. Para reduzir a velocidade da movimentação dos flagelos, graças ao aumento da viscosidade do meio, fez-se a adição da clara de ovo à cultura, em partes iguais, pois em maior quantidade tem logar rapidamente fenomenos de osmose que redundam na plasmolise do flagelado. Foi possivel, graças à combinação do exame em campo escuro com o aumento de viscosidade do meio, observar que a membrana ondulante percorre toda a extensão do corpo em todos os exemplares de flagelados examinados e que os flagelos são em numero de quatro, dos quais tres anteriores e um recorrente, aderente à membrana. O citostoma poude tambem ser visto sob a forma de pequeno entalhe anterior e situado do mesmo lado da membrana (Fig. 5).

Em esfregaços das culturas que vimos mantendo, feitos 10 dias após o repique, os flagelados se apresentam com dimensão maxima de 12µ X 9µ.

geralmente piriformes, com extremidade posterior curta e aguda, nucleo compacto, geralmente de situação lateral, citostoma alongado, protoplasma muito granuloso e axostilo pouco visivel (Fig. 6). Os flagelos são extremamente longos, atingindo os tres flagelos anteriores em uma *Trichomonas* de 8μ, respectivamente, 16μ, 22μ e 24μ. A membrana ondulante é de coloração dificil, mas nas vezes em que sua presença poude ser observada, mostrou-se sinuosa, acompanhando o corpo até à extremidade posterior, sendo margeado em todo comprimento por flagelo que se apresenta livre em grande extensão.

O exame das fezes, praticado dois meses depois, revelou ainda infecção do *Tapirus* pela mesma *Trichomonas*, embora desta vez mais discreta.

Lamina tipo No. 3435, com exemplar desenhado marcado, corada pela hemateina segundo Gilberto de Freitas e depositada na coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

Eutrichomastix bertholdoi, sp. n.

(Fig. 7)

Em esfregaços de fezes foram vistas numerosas formas que coincidem com a morfologia atribuida aos *Eutrichomastix*. Contorno circular, periforme ou alongado, com 5 a 8μ5 de comprimento; citostoma presente, porém, geralmente invisivel, de situação lateral anterior. Nucleo anterior, volumoso, com cerca de 2μ, com ou sem cariosoma visivel. Flagelos de regra pouco cromofilos, ao contrario dos de *Trichomonas tapiri*, sp.n.. Em alguns exemplares foi, todavia, possivel contar quatro flagelos que podem atingir até 13μ em flagelado de 8μ; geralmente dois dos flagelos são longos e dois curtos, derivando tres de um mesmo bleiaroplasta e outro de um granulo situado nas proximidades. Só excepcionalmente foi possivel perceber recorrencia do flagelo. Uma faixa corada percorre o corpo do flagelo, só sendo visivel em alguns exemplares, nos quais se vê fazer saliencia na extremidade posterior.

A tentativa de obtenção de cultura em meio de Hogue não logrou bom êxito.

A especie é assim denominada em homenagem a Frei Bertholdo von Mee, que nos forneceu o hospedeiro.

Lamina tipo corada pela hemateina. No. 3380 da coleção da Secção de Parasitologia do Instituto Butantan.

RESUMO

Em esfregaços de fezes de um exemplar de *Tapirus raulinus* de Pirapora, Estado de Minas Gerais, foram encontradas as seguintes especies de protozoarios.

Endamoeba dobelli, sp. n. (Figs. 1 e 2), com forma vegetativa de 8 μ 5 a 13 μ 6 e nucleo de 2 a 2 μ 5, com cromatina disposta em granulos perifericos e cariosoma central ou sub-central com 1/6 a 1/3 do diametro do nucleo. Cistos uninucleados com 4 μ 25 a 7 μ e morfologia nuclear identica à forma vegetativa. Foi obtida cultura nos meios de Hogue e de Löffler + Ringer.

Chilomastix navasi, sp. n. (Fig. 3), com 7 μ 5 a 13 μ de comprimento e 4 μ 5 a 7 μ de maior largura, citostoma com flagelo, nucleo anterior com 2 μ 5 de diametro, sem cariosoma individualizado e sem aglomeração de cromatina nos polos. Ha tres flagelos anteriores com 5 a 10 μ. Não foi conseguida cultura em meio de Hogue, nem no de Löffler + Ringer, segundo Simitch.

Trichomonas tapiri, sp. n. (Figs. 4, 5 e 6) com 8 μ 5 a 12 μ 5 de comprimento por 6 — 12 μ 5 de largura, elipticas ou quasi circulares, de nucleo arredondado, anterior, com cerca de 3 μ, citostoma longo e estreito, axostilo fazendo saliencia, tres flagelos anteriores, cujo comprimento, pode alcançar 20 μ, partindo de 2 granulos basais. Em esfregaços de fezes corados a membrana ondulante parece curta, mas ao ultramicroscopio (Fig. 5), em cultura, foi vista percorrer todo o corpo, margeada por um flagelo aderente. Cultura facilmente obtida em meio de Hogue.

Eutrichomastix bertholdoi, sp. n. (Fig. 7). Contorno circular, piriforme ou alongado, com 5 μ a 8 μ 5, citostoma presente, nucleo anterior com cerca de 2 μ, com ou sem cariosoma visivel. Ha quatro flagelos, que podem atingir até 13 μ nos maiores exemplares, e uma faixa corada que percorre toda extensão do flagelado. Não foi conseguida cultura em meio de Hogue.

ABSTRACT

Following species of Protozoa were found in stool smears of a specimen of *Tapirus raulinus* from Pirapora, State of Minas Gerais:

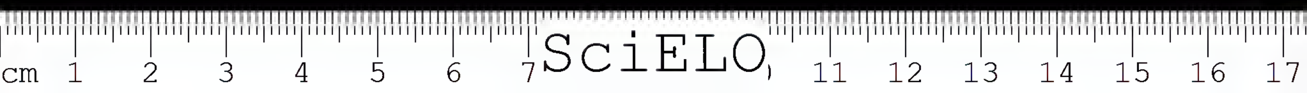
Endamoeba dobelli, n. sp. (Figs. 1 a. 2). Trophozoites measuring 8 μ to 13 μ 6. Nucleus with 2 to 2 μ 5, a central or sub-central karyosome with 1/6 to 1/3 of the nucleus diameter and chromatin in shape of small peripheric granules. Uninucleated cysts with identical nuclear morphology, measuring 4 μ 25 to 7 μ. Cultures were obtained in Hogue's and Löffler-Ringer media.

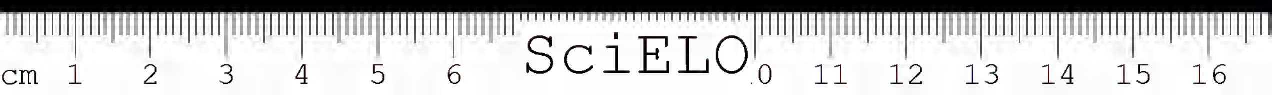
Chilomastix navasi, n. sp. (Fig. 3). Species with 7 μ 5 to 13 μ in lenght and 4 μ 5 to 7 μ largest width. Anterior nucleus 2 μ 5 in diameter, without an individualized karyosome or chromatic masses at the poles. There are three anterior flagella from 5 to 10 μ. Attempts to obtain cultures in Hogue's and Löffler-Ringer media, after Simitch, were unsuccessfull.

Trichomonas tapiri. n. sp. (Fig. 4 to 6). An elliptical or almost circular species, measuring from 8 μ 5 to 12 μ 5 in length by 6 to 12 μ 5 in width. Anterior deeply staining nucleus with about 3 μ. An anterior long and narrow cytostome and a projecting axostyle may sometimes be seen. Three anterior flagella, arising from two blepharoplasta, may reach up to 20 μ in length. In stained specimens the undulating membrane seems to be short; by ultramicroscopical examination of cultures, however, she was seen to run along the whole body's length, bordered by an adherent flagellum (Fig. 5). The culture was easily obtained in Hogue's media.

Eutrichomastix bertholdoi, n. sp. (Fig. 7). With circular, piriform or elongated contour, 5 to 8 μ 5 in lenght, cytostome present. Anterior nucleus about 2 μ in lenght, with or without a visible karyosome. There are four flagella, which might reach up to 13 μ, and a stained stripe which runs along the whole extension of the flagellate. Attempts to cultivate this species in Hogue's medium were unsuccessfull.

(Trabalho da Secção de Parasitologia e Protozoologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
Vol. XIV — 1940

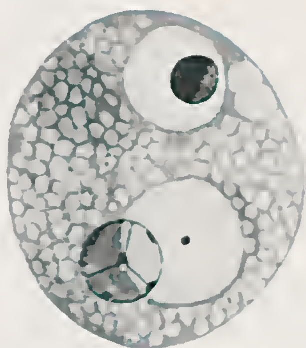


Fig. 1
Endamoeba dobelli, sp. n.
Forma vegetativa.

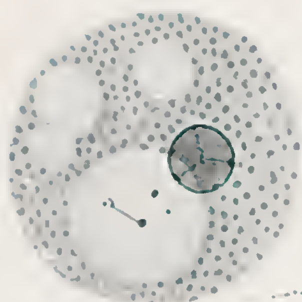


Fig. 2
Endamoeba dobelli, sp. n.
Cisto.



Fig. 3
Chilomastix nazasi, sp. n.

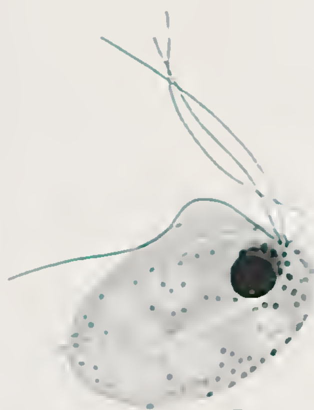


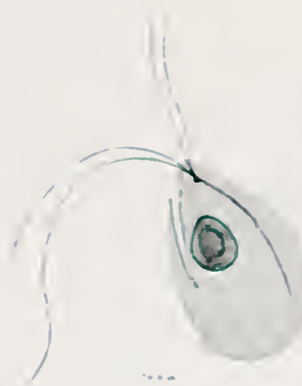
Fig. 4
Trichomonas tapiri, sp. n.



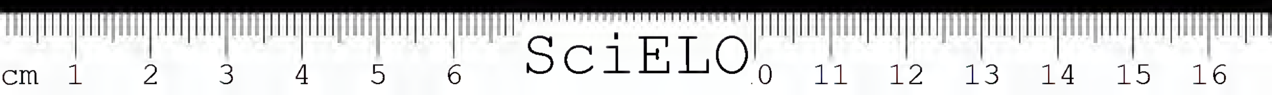
Fig. 5
Trichomonas tapiri, sp. n.



Fig. 6
Trichomonas tapiri, sp. n.



Eutrichomastix bertholdoi, sp. n.
Fig. 7


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
0 11 12 13 14 15 16

595.42:616.968.5

NOTAS DE ACAREOLOGIA

XXX. Familias, genero e especie novos de acarianos parasitas do pulmão de serpentes (*Acari. Pneumophionyssidae*, n. fam. e *Entonyssidae*, n. fam.)

POR

FLAVIO DA FONSECA

Os acarianos parasitas das vias respiratorias ficam distribuidos nos generos: *Rhinonyssus* TROUESSART, *Rhinonyssoides* HIRST, *Neonyssus* HIRST, *Neonyssoides* HIRST, *Ptilonyssus* BERLESE & TROUESSART, *Sommatericola* TRÄGÅRDH e *Sternostomum* TROUESSART que parasitam Aves; *Halarachne* ALLMAN, parasita de *Phocidae*; *Pneumonyssus* HAAN & GRIJNS, encontrados no pulmão de Primatas; *Entonyssus* EWING e *Ophiopneumicola* HUBBARD, ambos serpenticolas.

Interessam-nos sobretudo os dois ultimos generos, por incluirem parasitas de serpentes, tal como o novo genero a que se refere o presente trabalho.

Entonyssus EWING, 1923 (1) é caracterizado pela mandibula cujo dedo fixo tem forma de harpão, sendo o dedo movel falciforme, e tem como especie tipo *E. halli* EWING, 1923. A ele pertencem ainda: *E. riley* EWING, 1924, *E. glasmacheri* VITZTHUM, 1935 e *E. ewingi* HUBBARD, 1939.

Ophiopneumicola HUBBARD, 1938 (2) apresenta o dedo fixo apenas encurvado, sem o dente retrogrado encontrado em *Entonyssus*, sendo o dedo movel tambem falciforme; deste genero apenas é conhecida a especie tipo, *Ophiopneumicola colubri* HUBBARD, 1938.

O proprio autor do genero *Ophiopneumicola* julga possivel venha a ficar demonstrado que *Ophiopneumicola* HUBBARD, 1938 seja sinonimo de *Entonyssus* EWING, 1923. Julgamos, porém, que os caracteres das mandibulas bem como a ausencia de cerda bifida no apice do 4.° articulo dos palpos em *O. colubri* falam a favor da validade generica de *Ophiopneumicola* HUBBARD.

A ocorrencia digna de nota de dois generos de acarianos especializados no parasitismo do pulmão de serpentes, vem juntar-se agora a de um outro genero

dotado do mesmo tropismo, comprovando ainda uma vez que os sacos pulmonares de *Ophidia* representam *habitat* de primeira ordem não só para outros grupos de parasitas, tais como *Pentastomida* e *Nematoda*, como tambem para os *Acari*.

Necropsiando um exemplar da coral opistoglifa *Erythrolamprus aesculapii* L., 1758, proveniente de Botucatú, Estado de S. Paulo, observamos a ocorrencia de alguns acarianos que se locomoviam livremente no interior do saco pulmonar. Examinando o pulmão com os acarianos ainda vivos e moveis ao microscopio entomologico, tivemos a impressão de que se tratava de penetração *post-mortem* de ninfas de *Ophionyssus serpentium* (Hirst), especie importada e que se aclimatou em nosso serpentario, devido à côr raiada de vermelho e à rapidez dos seus movimentos. Tal hipotese foi, porém, logo afastada ao sabermos que o nosso auxiliar de laboratorio tinha acabado de sacrificar por decapitação o ofidio, que se encontrava em ótimas condições de vitalidade.

Examinando o material depois de montado em liquido de Berlese, ficou comprovado tratar-se de um novo acariano pertencente a um genero diverso de quantos existem descritos.

Na sistematica dos Dermanissideos (*sensu lato*), tem prevalecido ultimamente o criterio da subdivisão em familias, segundo os caracteristicos fornecidos pela gnatosoma, especialmente a forma das mandibulas. Em *Dermanyssidae* Kolenati, 1859 (*sensu strictu*) as mandibulas têm forma de estilete; em *Liponissidae* Vitzthum, 1931, apresentam o aspecto de tezouras sem dentes ou cerdas nos *digiti;* em *Ixodorhynchidae* Fonseca, 1934, apresentam um só *digitus* provido de dentes recurvados.

Quanto à subfamilia *Entonyssinae* Ewing, 1923, deverá, logicamente, tal como sucedeu a *Ixodorhynchinae* Ewing, 1923, ser elevada à categoria de familia, modificada a diagnose para incluir o genero *Ophiopneumicola* Hubbard, 1938.

Diagnose de *Entonyssidae*, fam. n.: Mandibula com dedo movel falciforme e dedo fixo em forma de harpão, com dente retrogrado, ou com ambos os dedos falciformes, sem dentes ou cerdas. Genero tipo: *Entonyssus* Ewing, 1923.

O encontro de um novo parasita que não se deixa enquadrar em familia alguma das até hoje reconhecidas, pois a mandibula é constituida por um *digitus mobilis* fortemente encurvado para fóra e por um *digitus fixus* rudimentar, obriga-nos a erigir a nova familia *Pneumophionyssidae*, fam. n.

Pneumophionyssidae, fam. n.

Diagnose — Mandibula da femea constituida por um *digitus mobilis* bem desenvolvido, porém, fracamente quitinizado e fortemente encurvado para fóra e por um *digitus fixus* rudimentar, ambos sem dentes ou cerdas.

Genero tipo: *Pneumophionyssus*, gen. n.

PNEUMOPHIONYSSUS, gen. n.

Mandibulas sem cerdas, com um só *digitus* bem desenvolvido, o *digitus mobilis*, fracamente quitinizado, encurvado para fóra em angulo reto, desprovido de dentes ou ganchos.

Especie tipo: *Pneumophionyssus aristoterisi*, sp. n.

Descrição da ♀

O idiosoma mede 680 μ de comprimento por 340 μ ao nivel do 4.º par.

Face ventral (Fig. 1).



Fig. 1
Pneumophionyssus aristoterisi, sp. n.
Face ventral

Placa esternal — Muito mais longa do que larga, sem prolongamentos entre as coxas, fracamente quitinizadas, medindo 130 μ de comprimento por 90 μ de largura ao nivel do par de cerda posterior. Superficie não reticulada, fracamente pontilhada, poros invisiveis. Apresenta tres pares de cerdas sub-iguais,

de 15 μ, equidistantes, os anteriores nos angulos anteriores e os posteriores muito à frente da margem posterior.

Placa genital — Curta e estreita, de extremidade posterior acuminada, com cerca de 125 μ de comprimento por 50 μ de maior largura, com estrias longitudinais e sem cerdas, não apresentando mesmo nem o par genital.

Placas metaesternal e *inguinal* invisiveis.

Placa anal larga, com 80 μ de maior largura, de comprimento impossivel de medir por acompanhar a curvatura da extremidade posterior do corpo. *Anus* largo, a 22 μ da margem anterior da placa. Cerdas pares mais longas do que a impar, as primeiras com 55 μ e a ultima com 25 μ, ficando as anteriores mais ou menos ao nivel do bordo anterior do anus.

A superficie descoberta da face ventral apresenta 5 pares de cerdas, lisas, como todas as outras nesta especie.

Estigmas ao nivel do 4.º par de coxas. Peritrema curtissimo, não ultrapassando o bordo anterior da coxa IV.

Face dorsal (Fig. 2).

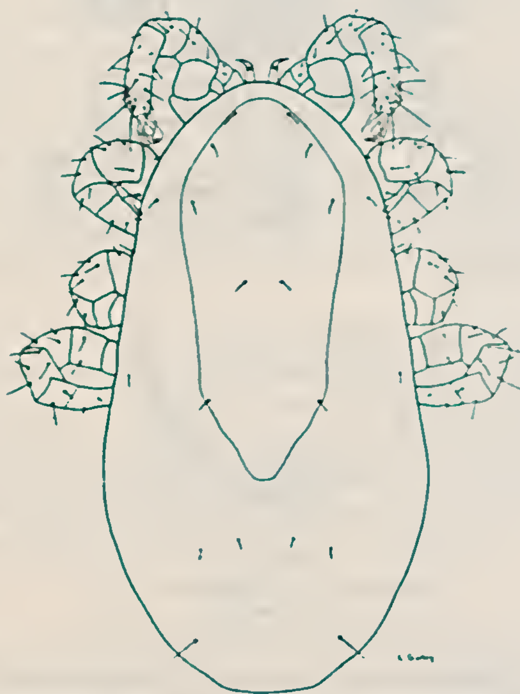


Fig. 2
Pneumophionyssus aristoterisi, sp. n.
Face dorsal

Escudo dorsal de quitinização muito fraca e de limites dificeis de perceber quando o material não se encontra bem clareado. Mede 320 μ por 196 μ de maior largura ao nivel do 2.° par de patas, ficando a extremidade posterior um pouco para trás do nivel da extremidade posterior da placa genital. A superficie do escudo é finamente pontilhada, reticulada na metade anterior, apresentando cerca de seis pares de cerdas muito curtas, dos quais só o 4.° e o 5.° ficam bem para dentro das bordas. O escudo, que deixa a descoberto quasi todo o opistosoma, atenua-se rapidamente para trás, a partir do nivel do 3.° par de patas, terminando em ponta, sem cerdas posteriores.

A larga superficie descoberta é praticamente glabra, apenas ocorrendo cerca de 6 pares de cerdas, dos quais tres marginais anteriores e um posterior.

Gnatosoma

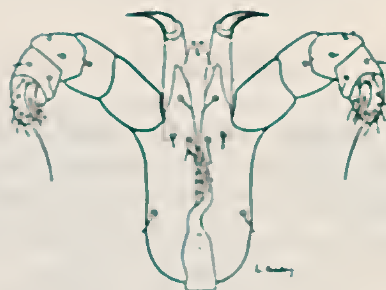


Fig. 3
Pneumophionyssus aristoterisi, sp. n.
Gnatosoma

O gnatosoma se acha quasi inteiramente recoberto pela extremidade anterior do idiosoma, apenas a extremidade das mandibulas ultrapassando esse limite.

Maxillicoxae com os quatro pares habituais de cerdas;

Corniculi muito fracamente quitinizados e de aspecto normal;

Labrum membranoso, bifido no apice, sem pêlos.

Mandibulas — Tibia largo e longo, com 85μ x 22μ, retraidos em todos os exemplares. Dos *digiti* só o *digitus mobilis* se acha bem desenvolvido, apresentando-se largo na base, encurvado para fóra em angulo de 90°. Dá a impressão de escavado em todo o seu comprimento. Do outro dedo apenas parece haver um rudimento, pouco maior do que um tuberculo e com situação interna. Não ha *pulvillum* nem *pilus dentilis*.

Palpos normais, com cerda bifida no 4.º articulo.

Tritosterno bifido, com raros pêlos curtos.

Patas — Finas, não dilatadas, sem espinho, quer nas coxas, quer nos restantes articulos. Coxas I e III com 2 cerdas e coxa IV com uma só. Tarso IV muito mais longo do que os outros. Todas as patas com *pulvillum* e duas garras fortes.

Descrito de dois cotipos ♀ ♀, dos quais um dissecado para estudo do gnatosoma, No. 1887 da coleção de *Acari*. Tres paratipos do mesmo hospedeiro, No. 1956 da mesma coleção. Macho desconhecido.

Hospedeiro tipo — *Erythrolamprus aesculapii* L., 1758.

Localidade tipo — Botucatú, Estado de S. Paulo, Brasil.

Data da captura: 23-IV-1940.

O nome especifico é dado em homenagem ao auxiliar da Secção de Parasitologia, Sr. Aristoteris T. Leão, que encontrou os acarianos estudados neste trabalho.

ABSTRACT

Two new families of parasitic *Acari* are erected. *Entonyssidae*, n. fam. to include *Entonyssus* EWING, 1923 and *Ophiopneumicola* HUBBARD, 1938, with following diagnosis: Mandibula with movable arm falciform and fixed arm harponlike, with a retrograd tooth or with both arms falciform, without teeth or setae. Type genus: *Entonyssus* EWING, 1923.

Pneumophionyssidae, n. fam., including *Pneumophionyssus*, n. gen., with following diagnosis: Mandibula of the female with a long movable arm, which is weakly chitinized and strong curved outwards; fixed arm unconspicuous; there are no teeth or setae. Type genus: *Pneumophionyssus*, n. gen..

The new species *Pneumophionyssus aristoterisi*, n. sp., is also described from females found in the lung sac of the snake *Erythrolamprus aesculapii* L., 1758, from Botucatú, S. Paulo, Brazil.

BIBLIOGRAFIA

1. *Ewing, H. E.* — The Dermanyssid Mites of North America — Proc. U. S. Nat. Museum **62**(13):1-26.1922.
2. *Hubbard, W. E.* — *Ophiopneumicola colubri*, n. g., n. sp., a lung mite from a snake — Trans. Amer. Microsc. Soc. **57**(4):400-406.1938.

(Trabalho da Secção de Parasitologia e Protozoologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).

595.42:616.968.5

NOTAS DE ACAREOLOGIA

XXXI. Bolivilaelaps tricholabiatus, *gen. n., sp. n.* (Acari. Laelaptidae)

POR

FLAVIO DA FONSECA

Os *Laelaptidae*, parasitas de vertebrados que apenas apresentam um par de cerdas na placa genital ou genito-ventral, ficam distribuidos pelos generos *Cyclolaelaps* EWING, *Eubrachylaelaps* EWING, *Hemilaelaps* EWING, *Atricholaelaps* EWING, *Neoparalaelaps* (FONSECA) (= *Paralaelaps* FONSECA), *Cavilaelaps* FONSECA, *Ischnolaelaps* FONSECA e *Gigantolaelaps* FONSECA. De todos estes se distingue o novo genero abaixo descrito pela expansão do assoalho do hipofaringe que o torna extremamente caracteristico.

BOLIVILAELAPS, gen. n.

Laelaptidae de pequenas dimensões, com genito-ventral não expandida e trazendo só o par de cerdas genital. Gnatosoma com expansão labial membranosa provida de cerdas rombas no bordo livre. Especie tipo: *Bolivilaelaps tricholabiatus*, sp. n..

Bolivilaelaps tricholabiatus, sp. n.

Só a femea é conhecida.

Laelaptidae. De contorno eliptico muito regular, apenas mais afilado na extremidade anterior, com patas ligeiramente alargadas, tais como as da maioria das especies de *Laelaps, sensu strictu;* placas pouco quitinizadas, sem verdadeiros espinhos no corpo; gnatosoma com expansão membranosa provida de longas cerdas rombas. Comprimento do idiosoma 590 µ e largura maxima 385 µ, em ambos os cotipos.

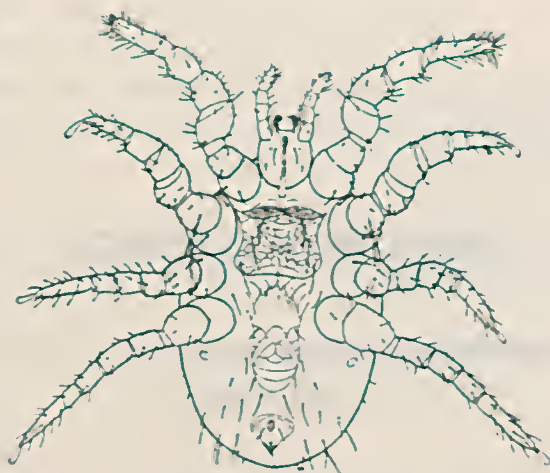


Fig. 1
Face ventral de um cotipo ♀

Face ventral

Placa esternal fracamente quitinizada, com reticulo apenas perceptivel com aumentos fortes, emitindo prolongamentos entre as coxas I e II e II e III, de bordo anterior ligeiramente convexo e posterior levemente concavo. As cerdas são sub-iguais, medindo o par anterior, implantado no bordo anterior, 58μ, o medio 62μ e o posterior 65μ; as cerdas se encontram em uma mesma linha antero-posterior divergente para trás e são afiladas e lisas. A placa tem 104μ de comprimento na linha mediana, por 108μ de menor largura. Ha dois pares de poros em forma de fenda com a situação habitual.

Placa genital. — De quitinização fraca, praticamente não apresenta dilatação, terminando em prolongamento posterior de extremidade arredondada. Apresenta duas linhas transversais, posteriores e concavas para a frente, e um reticulo escamoso à frente destes. Nelle só se implanta o par de cerdas genital, cujos elementos medem 46μ. A largura maxima da placa é de 77μ.

Placa anal. — É cordiforme e tão longa quanto larga, medindo 97μ por 97μ. O bordo anterior é convexo e a zona do *cribrum* termina muito afilada, apresentando 3 series de estrias. A superficie é reticulada. O anus mede, 31μ por 19μ e fica a 8μ do bordo anterior. As cerdas pares medem 30μ, ficam logo atrás do nivel do meio do anus e muito mais proximas deste do que dos bordos laterais da placa. A cerda impar assenta sobre uma elevação da superficie e é bem mais forte do que as pares, estando fraturada em ambos os cotipos.

Placas inguinais. — Elipticas, de situação muito externa, medindo cerca de 24μ de comprimento.

A restante superficie descoberta tem 12 a 15 pares de cerdas de cada lado, sendo as dos bordos do corpo mais desenvolvidas.

Estigmas ao nivel do intervalo entre as coxas III e IV.

Peritremas percorrendo o bordo ventral até o nivel do bordo posterior da coxa II, passando em seguida ao bordo dorsal, sendo visivel até o bordo anterior da coxa I. *Peritrematalia* prolongando-se para trás dos estigmas, tal como em *Laelaps*, apresentando aí um pequeno poro, acompanhando o peritrema até a extremidade anterior do escudo dorsal.

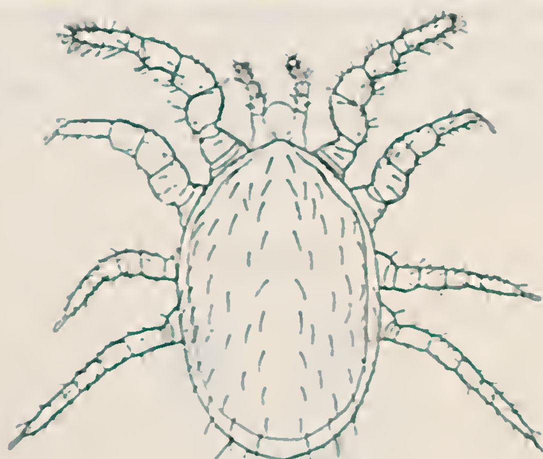


Fig. 2
Face dorsal de um cotipo ♀

Face dorsal

Escudo dorsal. — A face dorsal é recoberta por um escudo dorsal unico, de quitinização fraca, porém mais intensa do que a das placas ventrais, de superficie reticulada. Sua extremidade anterior, afilada, funde-se com as peritrematalia, apresentando os seus bordos laterais sinuosidade muito pronunciada, correspondente às espaduas, e ligeiras ondulações daí para trás. O bordo posterior, muito regular, é largo e arredondado, ficando ao nivel da cerda posterior da placa anal. Em toda volta da face dorsal ha uma faixa de tegumento nú, exceto na extremidade anterior. Esta faixa é, na região do propodosoma, em parte recoberta pelas *peritrematalia* em seu percurso dorsal. O comprimento do escudo dorsal é de 485μ e sua maior largura, ao nivel do 4.° par de patas, é de 329μ. A quetotaxia do escudo é a seguinte: além das cerdas verticais e de um par que lhes fica proximo, existem 11 pares de cerdas submedianas, com cerca de 46μ, exceto o ultimo que mede apenas 34μ. Ha tambem 11 pares de

cerdas marginais ou submarginais e cerca de 15 pares entre estes e as submedianas, todos mais ou menos com 45μ; existe, finalmente, um par marginal posterior com 73μ. A zona marginal posterior descoberta, apresenta a partir do intervalo entre as coxas III e IV algumas cerdas de dimensões progressivamente crescentes, medindo o par posterior, que é de muito o maior, 85μ. Além do reticulo não foram vistas outras marcas no escudo, que não apresenta escultura.

Patas

As patas I e III são um tanto alargadas, especialmente a II. As coxas não têm espinhos e sim cerdas fracas, as quais na coxa I ficam no bordo posterior, sendo a distal mais fina, tal como a da coxa IV. Em todas as patas, excetuando as do par I as cerdas mais fortes são as dos tarsos. No lado dorsal da extremidade distal do tarso I ha um tufo de cerdas fracas. Os tarsos todos terminam em expansão membranosa com 2 garras muito fracas.

Gnatosoma

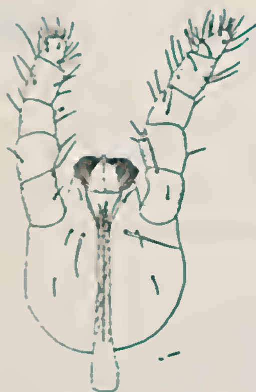


Fig. 3
Gnatosoma da ♀

Palpos normais, com cerda bifida no apice do 4.º articulo.

Tritosterno pectinado nos 2/3 distais, longo e bifido.

Maxillicoxae separadas por uma *rima hypopharyngis* que apresenta varias series de denticulos pouco nitidos. Das cerdas as *posteriores internae* são muito mais longas do que as *externae*, as *anteriores* e as *maxillicoxales*. Os *corniculi* são ligeiramente mais quitinizados do que a restante superficie.

Labio — O plano ventral seguinte é constituido por uma expansão membranosa que parece partir do hipofaringe, alcançando o apice dos *corniculi*, a qual apresenta toda a margem recoberta de cerdas, tanto mais longas e fortes quanto mais posteriores, recobrindo a face ventral dos *corniculi*. Tais cerdas têm extremidade romba e ligeiramente dilatada, assemelhando-se a baguetas de tambor.

Labro — Com estriação longitudinal, terminando em ponta que alcança e ultrapassa o apice das mandibulas.

Styli sob a forma de hastes delgadas, encurvadas para dentro.



Fig. 4
Mandibula da ♀

Mandibulas fortes, com *pulvillus* atrás do *digitus mobilis* e cerda curta atrás do *digitus fixus*. *Pilus dentilis* extremamente dilatado na base e de apice encurvado e fino, apresentando perfil de uma ave. *Digitus mobilis* bem mais longo do que o *digitus fixus* e de apice encurvado recobrindo o apice do seu oponente.

O *digitus mobilis* parece ter dois dentes fortes e o *digitus fixus* um só dente.

Epistoma membranoso curto e dificilmente perceptivel.

Descrição feita de dois cotipos montados na mesma lamina, No. 243 da coleção do Instituto Butantan. O material foi capturado sobre *Isothrix bistriatus* Wagner, na Bolivia, e remetido ao autor pelo dr. Fabio Werneck, do Instituto Oswaldo Cruz, ao qual fica consignado agradecimento.

ABSTRACT

Bolivilaelaps, n. gen. is erected to include a new species of *Laelaptidae* from *Isothrix bistriatus* WAGNER, found in Bolivia.

Diagnosis: Genito-ventral plate not enlarged, bearing only the genital pair of setae. Labium with membranous expansion, bearing stout setae with slightly expanded extremities.

Type species: *Bolivilaelaps tricholabiatus,* n. sp..

(Trabalho da Secção de Parasitologia e Protozoologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).

591.4:595.62

SOBRE A MUSCULATURA DA *SCOLOPENDRA VIRIDICORNIS* NEWP.

Uma contribuição para o estudo comparativo da musculatura dos Quilopodos e Insetos

POR

WOLFGANG BÜCHERL

Em Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreiches, 1925, Verhoeff escreve à pag. 60: "A musculatura dos Quilopodos espera ainda por um estudo detalhado, existindo até hoje apenas dois trabalhos pequenos neste ramo, um de Meinert (Caput *Scolopendra*, 1883) e outro de Verhoeff (Zoolog. Ergeb., 1896).

A musculatura das patas foi tratada parcialmente por Verhoeff, 1902, in "Thorax der Insecten, mit Berücksichtigung der Chilopoden", Halle, Nova Acta. Foi feita uma descrição mais detalhada, em 1903, pelo mesmo autor.

No capitulo "Vergleichende Morphologie und Phylogenie", Bronn's 1925, pag. 385, Verhoeff faz ligeiras considerações comparativas sobre os sistemas musculares dos Litobiomorfos e Geofilomorfos.

Torna-se necessario, portanto, realizar um estudo comparativo mais aprofundado, baseado principalmente sobre a musculatura dos Escolopendromorfos, que são os mais evoluidos entre os Quilopodos e sobre os quais Verhoeff quasi nada tem feito.

É o que procuramos fazer no presente trabalho, servindo-nos de modelo a *Scolopendra viridicornis* Newp.. Não consideramos a musculatura da capsula cefalica, já estudada por Meinnert, nem tão pouco a dos apendices cefalicos, descritos por Verhoeff.

Os musculos dos orgãos internos já foram estudados num dos recentes trabalhos do autor.

1. Musculatura e tegumento

A musculatura e o tegumento quitinoso apresentam muitas relações tanto fisiologicas como morfologicas, principalmente quanto à origem e inserção da primeira e quanto à forma externa do ultimo. Estas relações são tão importantes que não é possivel interpretar com precisão a morfologia externa (p. ex. a origem dos sulcos episcutais, a grossura e a diminuição de profundidade das carinas laterais, os sulcos transversais dos pre-tergitos e pre-esternitos, a posição e a forma externa dos escleritos pleurais, principalmente daqueles que concorrem na formação da coxa, das reentrancias e depressões nos tergitos e esternitos, etc...) sem que se estude ao mesmo tempo o percurso e a direção dos feixes musculares e os seus pontos de origem e inserção.

Não é facil distinguir a origem e a inserção de um musculo, porque ambos estes pontos, à primeira vista, parecem ser identicos.

Afim de extinguir qualquer duvida, definimos logo no principio o que se entende por "*origo*" e "*insertio*" de um musculo. Denominamos "*origo*" o lugar em que o musculo estabelece contacto com uma parte imovel do tegumento quitinoso e "*insertio*" quando estabelece contacto com uma parte movel.

Portanto, estando um musculo em atividade, a parte fixa corresponde à origem, servindo de ponto de apoio à mecanica muscular e a parte movel à inserção, sendo movida pela pressão ou tração muscular.

Em caso pratico nem sempre é facil distinguir estes dois pontos. Torna-se necessario, então, fazer funcionar o musculo.

Os feixes musculares acompanham em linha geral a segmentação homonoma do tegumento externo dos Quilopodos. Esta disposição segmentar é nitida principalmente nos feixes musculares pleurais, dorso- e ventro-pleurais (Vide Foto 5).

A rede traqueal apresenta igual disposição homonoma, saltando porem cada vez um segmento, afora os primeiros e ultimos, nos quais os canais respiratorios obedecem a uma orientação particular.

A rede traqueal penetra por entre os feixes musculares, envolvendo-os total- ou parcialmente e separando-os desta maneira entre si (Vide Foto 4 "a"). As duas anastomoses ventro-longitudinais grossas correspondem duas dorso-longitudinais finais. Destas anastomoses como tambem das outras traqueias, que saem dos estigmas, partem inumeras traqueolas que formam verdadeira rede respiratoria, terminando no sarcolema das fibras estriadas.

As traqueias e traqueolas separam os feixes musculares, subdividindo-os muitas vezes em subfeixes, como se pode ver nitidamente na Foto 5 no tocante aos feixes dorso-longitudinais.

Para que possamos dar uma noção nitida da origem e inserção dos feixes musculares, torna-se necessario descrever antes o aspecto interno dos segmentos.

a) Aspecto interno dos segmentos

Sem duvida os Quilopodos descendem de formas traqueadas primitivas, cujo corpo era dividido em metameros homonomos e debaixo de cuja cuticula encontrava-se uma camada muscular, subdividida em fibras longitudinais e circulares.

Com o progresso da quitinisação das placas dorsais e ventrais e das ilhotas pleurais, tornou-se impossivel que a camada muscular primitiva continuasse na mesma espessura e uniformidade como dantes. Iniciou-se então o processo de separação em 3 zonas tipicas dentro de cada metamero: o tergito, o esternito e, unindo-os de cada lado, os pleuritos. Concomitantemente a musculatura dissolveu-se em feixes proprios para cada uma destas regiões e em feixes que uniam as 3 zonas.

A quitinisação não se processou de modo igual em todo o corpo, sendo, em primeiro lugar, mais rapida nas zonas que eram diretamente expostas às inclemencias do clima, da luz, dos inimigos (placa cefalica, ultimo segmento, tergitos, patas) e, em segundo lugar, nas regiões que conservavam contacto com o solo (esternitos). As tenras peles pleurais apenas sofreram quitinisação em algumas porções circunscritas, aglomeradas principalmente na região da inserção das patas locomotoras e dos estigmas. Analogamente evoluiu a musculatura, sendo a dorsal a mais forte (Vide Foto 4) e a ventral tambem muito espessa (Vide Foto 5), enquanto que os feixes pleurais são relativamente fracos, ainda que numerosos.

Os feixes musculares, principalmente dos tergitos e esternitos, afim de poderem realizar plenamente sua função, receberam um auxilio eficaz pela formação de trabeculas, apofises, dobras, articulações, suturas, sulcos, reentrancias e depressões da quitina.

Portanto, as articulações desta segmentação, chamada "secundaria", para ser distinguida da "primitiva", são meras formações tegumentares, oriundas pela intercalação de peles membranosas entre elementos quitinisados juxtapostos, distantes ou sobrepostos.

Nos Quilopodos o ultimo caso é o mais frequente, ocorrendo não só entre os articulos das patas, mas tambem, ainda que com algumas modificações, entre os tergitos e esternitos. Desta maneira, estes ultimos parecem sobrepostos como as telhas de um telhado, sendo unidos por peles membranosas dobradas, nas quais inserem-se os feixes musculares longitudinais (Vide Fig. 1). A tração destes feixes motivou a superposição articular das placas quitinosas, dando origem aos pre-tergitos e pre-esternitos. Esta região conservou sua mobilidade primitiva (Vide Figs. 1 e 2 "e"), indispensavel para os movimentos locomotores. Attems *in* "Das Tierreich, 54. Lieferung, 2. *Scolopendromorpha* 1930," diz à pag. 9: "Comparando os Escolopendromorfos com os Geofilomorfos vemos que nos primeiros a formação de segmentos intercalares é quasi nula. Pretergitos nitidos só existem nos *Cryptopinae, Theatopsinae* e *Asanada.*"

Esta afirmação de Attems é um tanto confusa. Ainda que não existam pre-tergitos nitidos nas Escolopendras, vimos, contudo, observando os tergitos pelo lado interno, em frente ao tergito uma fileira de 6 escleritos, servindo todos eles de ponto de inserção aos feixes musculares (Vide Figs. 1 e 2 "a"). Estes escleritos pertencem ao tergito seguinte, sendo separados dele apenas por um sulco horizontal (Vide Fig. 1 — tergitos em estado natural e Fig. 2 — tergitos distendidos). Os dois sulcos paramedianos (b) atravessam todos os tergitos, continuando mesmo na zona dobrada e terminando nas peles membranosas finas.

Verhoeff *in* Bronn's Klassen u. Ordnungen des Tierreiches, *Arthropoda, Chilopoda,* 1925, considera estes escleritos como diferenciações morfologicas dos tergitos. Neste ponto tem ele razão, porém não menciona si são diferenciações do tergito anterior ou do posterior. Alem disso Verhoeff nega a existencia de qualquer feixe muscular longitudinal proprio a estas zonas intersegmentares.

Quanto à primeira asserção já dissemos que nas Escolopendras existem apenas pre-tergitos (sob a forma de 6 escleritos enfileirados) (Vide Figs. 1 e 2 "a") cobertos pelo tergito anterior e servindo de lugar de inserção a elementos musculares.

Sobre a existencia de feixes musculares, proprios aos pre-tergitos, falaremos num dos capitulos seguintes.

Nas zonas laterais do lado interno de cada tergito observamos frequentemente sulcos fracos, curtos e muitas vezes bi- ou tripartidos que não aparecem exteriormente, mas cujas bordas internas são constituidas por elevações quitinosas que oferecem boas bases para a origem muscular (Vide Figs. 1 e 2).

Alem dos dois sulcos paramedianos dos tergitos e esternitos e das saliencias internas originadas por elevações da quitina, observamos, principalmente nas zonas pleurais, trabeculas quitinisadas, servindo igualmente de lugares de inserção aos musculos.

b) Origem e inserção muscular

Nas Escolopendras não encontramos nenhum caso em que os feixes musculares se unissem diretamente com o tegumento quitinoso, como acontece frequentemente nos Insetos, mas estabelecem sempre contacto direto com a epiderme subcuticular (Vide Microfoto 1 "d"). A zona de união é constituida pela base das celulas epidermicas. A membrana basilar é sempre nitida e visivel (como se vê pela Microfoto mencionada), terminando nela o feixe muscular, quasi sempre por meio de um campo claro (b). A primeira estria transversal (campo escuro) ora é próxima, ora distante da referida membrana. A epiderme subcuticular oferece geralmente nas zonas em que terminam os musculos, um aspecto diferente das regiões livres de fibras musculares. Suas celulas são mais cilindricas, comprimidas lateralmente e de contornos irregulares. Em sua estrutura interna prevalecem elementos fibrilares (dos quais originam-se as conhecidas tonofibrilas) (c). Estes são amontoados em pequenos feixes, que terminam na parede anterior das celulas em forma de cone ou cilindro. Atravessam, portanto, as celulas da epiderme de lado a lado (Vide Microfoto 1 "c").

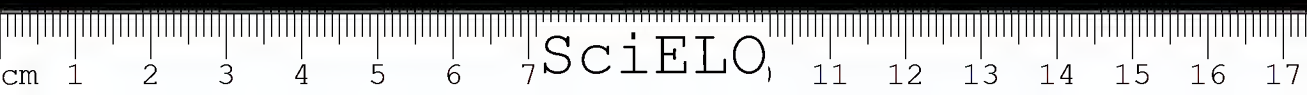
Entre as tonofibrilas e as fibras musculares medeia, como já dissemos, a membrana basilar (a). Este fato constitue uma prova de que as primeiras são de origem epidermica e não muscular.

Em alguns lugares pudemos observar nucleos por entre as tonofibrilas. Trata-se de nucleos epidermicos, apresentando forma diferente da tipica, i. é, não são geralmente redondos com posição central na celula, mas fusiformes e deslocados para uma das paredes laterais.

Nas zonas, porém, em que se aproxima apenas um feixe muscular delgado, existindo, por conseguinte, poucas tonofibrilas, as celulas apresentam-se com aspecto quasi normal, conservando sua forma cilindrica e não diferindo seus nucleos dos normais.

Na endocuticula (Vide Microfoto 2 "a") não conseguimos observar os chamados "cones fibrilares" ou "cilindros fibrilares", mencionados por SCHULZE e PÉREZ (Vide bibliografia) como presentes nas camadas subcuticulares de numerosos Hexapodos.

Nas zonas de aglomeração de feixes musculares, não havendo lugar para que todos estabeleçam contacto direto com a epiderme, como acontece quando uma dobra de quitina penetra profundamente pelo tronco, ou quando se encontra uma saliencia acentuada da mesma, observamos "tendões" (Vide Microfoto 2). São de natureza quitinosa, homogenea, apresentando-se aqui sob a forma de faixas largas, arredondadas apicalmente, acolá sob a forma de alças longas, com



apice alargado. Ocorrendo ao longo da parede interna das placas fortemente quitinisadas e imoveis, formam os pontos originais dos musculos; encontrando-se, ao contrario, no interior do tronco ou nas peles membranosas, são as bases da inserção muscular.

A origem dos tendões subepidermicos pode ser explicada facilmente pela invaginação das celulas epidermicas, de um lado, e pela junção e prolongação das tonofibrilas, do outro.

Mais dificil é explicar como se originaram os tendões, nos quais se inserem os feixes musculares horizontais, p. ex. das paredes laterais do coxosternum forcipular (Vide Microfoto 3 "a"). Estes tendões (b) perderam completamente o contacto com a epiderme do tegumento, apresentando, contudo, natureza quitinosa e alguns nucleos epidermicos pequenos (c). O plasma epidermico, entretanto, acha-se ausente ou foi gasto na formação destes tendões. Trata-se certamente de uma invaginação profunda de zonas tonofibrilares da epiderme, processada durante os periodos embrionarios. Durante a evolução seguinte, as porções epidermicas tonofibrilares, invaginadas cada vez mais pela tração excessiva dos musculos, sofreram uma ruptura progressiva nas zonas proximas ao tegumento, indo alojar-se definitivamente no interior do tronco e servindo de trave de inserção aos dois feixes horizontais simetricos do coxosternum forcipular (Vide Microfoto 3).

Fato analogo pode ser observado nos limites entre os dois esternitos de cada segmento. Aí observamos dois musculos ventrais, quasi horizontais, que se unem na linha mediana por meio de um tendão facilmente visivel a olho nu (Vide Foto 5 "a").

Um tendão ainda mais nitido pode ser visto na mesma Fotografia-b, como ainda em muitos outros lugares, em que se unem mais feixes musculares.

c) A musculatura

A simetria bilateral e a segmentação homonoma, proprias dos Quilopodos e de seus ancestrais, manifestam-se na disposição e repetição dos feixes musculares. A cada feixe corresponde um igual no mesmo metamero (Vide Figs. 3 e 4 e Fotos 4 e 5).

Para muitos AA. a segmentação dos Quilopodos é heteronoma. Não se pode negar que estes tenham razão, si aceitarmos as duas palavras "homonomo e heteronomo" no sentido restrito, porque, de fato, tomando dois segmentos proximos, vemos que são desiguais. De outro lado, porém, os segmentos "estig-

matoforos" são iguais e os "astigmatoforos" correspondem-se igualmente. Desta maneira o litigio entre os AA. é mais uma "*lis de verbis*".

Os feixes musculares acompanham esta desigualdade dos segmentos, i. é, repetem-se quando ocorrem segmentos iguais (3.º, 5.º, 8.º, 10.º, etc., e 2.º, 4.º, 6.º, 7.º, 9.º 11.º, etc.). Da mesma forma que o 6.º e o 7.º segmentos são iguais, neles se repetem os mesmos feixes musculares, como veremos depois.

A musculatura dos Quilopodos deve ser derivada da dos Anelideos, principalmente dos Poliquetas ou Oligoquetas. Entre os Poliquetas a familia *Nereidae* oferece muitas analogias com os Geofilomorfos, como é facil vêr, comparando series de cortes a microtomo provenientes de ambos. Nos Oligoquetas observamos 2 camadas musculares, a circular externa e a longitudinal interna. Os musculos intersegmentares longitudinais dos Quilopodos derivam-se, sem duvida, da camada muscular longitudinal dos Anelideos. Progredindo a quitinisação, esta camada foi deslocada para a linha mediana dorsal e ventral e veiu a constituir os feixes dorsais e ventrais concentrados e divididos em subfeixes (Vide Fig. 4 — aspecto interno de um segmento da *Scolopendra viridicornis* NEWP.).

Os musculos dorso-ventrais, dorso-pleurais e a musculatura das patas originaram-se da musculatura circular dos Anelideos. Esta camada sofreu, devido á concentração dos feixes longitudinais na linha mediana, um deslocamento para as zonas marginais dos tergitos (nas carinas laterais) e dos esternitos, vindo a constituir os musculos acima referidos.

Nos limites entre um e outro segmento, dentro da dobra do tergito anterior, observamos nos tergitos feixes que vão em direção horizontal da linha mediana para as pleuras. É provavel que estes feixes se tenham originado da musculatura dos "dissepimentos" dos Anelideos.

Os musculos "promotores" e "remotores" das coxas que se originam aos pares nos tergitos e esternitos, inserindo-se nas margens superiores e inferiores dos escleritos da coxa, descendem igualmente da musculatura circular dos Anelideos.

Os musculos, quer intersegmentares, quer segmentares, são repartidos em muitos feixes e subfeixes, de maneira que é dificil reduzi-los aos feixes primitivos simples (Vide Foto 5 e Fig. 3).

Contudo, aproveitando-nos da nomenclatura de Voss e adaptando-a ao nosso caso, podemos distinguir os feixes musculares mais importantes (que sempre ocorrem aos pares) da seguinte maneira:

- 1) Musculos longitudinais (Fig. 3 — mdl e mvl)
  - dorsais (Fig. 3 — *mdl*)
    - segmentares (Fig. 4 — *mdls*)
    - intersegmentares (Fig. 4 — *mdli*)
  - ventrais (Fig. 3 — *mvl*)
    - segmentares (*mvls*)
    - intersegmentares (*mvli*)
- 2) Musculos dorso-ventrais (Fig. 3 — mdv)
  - intersegmentares (Fig. 4 — *mdvi*)
  - segmentares (*mdvs*)
- 3) Musculos pleurais ....
  - dorsais (Figs. 3 e 4 — *mdpl*)
  - ventrais (Figs. 3 e 4 — *mvpl*)
- 4) Musculos das patas ..
  - proprios
  - ventrais (m. subcoxales sternales)

Esta nomenclatura, por nós alterada, permite perfeitamente indicar com exatidão a posição de um musculo dentro de um determinado segmento. É suficiente indicar este segmento com um numero romano. P. ex.: VI "mdl" é o musculo dorso-longitudinal do 6.° segmento.

Quasi todos os feixes musculares dos Quilopodos são subdivididos em principais e secundarios. Para determinar mais de perto estes feixes ajunta-se um algarismo no fim da abreviação muscular, p. ex.: mdl_1 = musculo dorso-longitudinal principal ou "primus"; mdl_2 = musculo dorso-longitudinal "secundus".

Dissecando a *Scolopendra viridicornis* pelo lado ventral e afastando cuidadosamente do interior do seu tronco o corpo adiposo e os orgãos internos, depara-se-nos o quadro muscular da Fig. 3, que é um tanto esquematizado. A Fig. 4 apresenta uma reconstrução grafica esquematizada de um segmento com seus feixes musculares. A Foto 4 mostra apenas os "mdl" e alguns feixes dorso-ventrais.

1) MUSCULOS LONGITUDINAIS

(Vide Figs. 5 e 6)

Na descrição dos musculos dorsais partimos sempre do aspecto que se obtem, quando se dissecam as lacraias pelo lado ventral.

Os musculos longitudinais dos Escolopendromorfos subdividem-se em diversos feixes, segmentares uns, intersegmentares outros.

Os intersegmentares são os mais importantes, caíndo logo em vista pela sua extensão e espessura. Já não podem ser reduzidos mais ao caso primitivo de m. long. principais ou medianos e long. secundarios ou laterais.

Musculos dorso-longitudinais — O feixe dorso-longitudinal mais importante é o "*Musculo dorso-longitudinal intersegmentar "primus"*: mdli$_1$" (Vide Fig. 5). É visivel quando se abre uma lacraia pelo lado ventral, afastando-se todos os orgãos internos. Localiza-se, portanto, no lado inferior dos feixes dorsais, ficando a parte interna de seu feixe proxima ao coração. Não se trata propriamente de um feixe extritamente longitudinal, porque diverge fortemente para o lado externo (Vide Fig. 5 e Foto 4 "b").

O mdli$_1$ ocorre somente nos segmentos "estigmatoforos" (Vide Figs. 3 e 5). Apresenta forma de trapezio com a base maior para a frente.

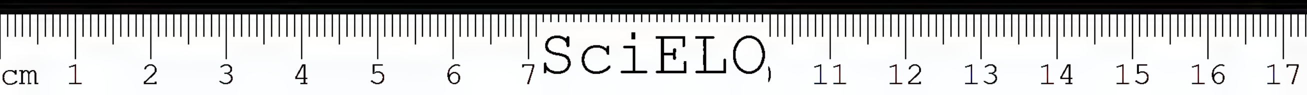
Este musculo só atinge a epiderme subcuticular nos pontos da *origem* e da *inserção*, enquanto que as suas outras porções, cedendo lugar aos feixes dorsais segmentares, extendem-se para o interior da zona dorsal (Vide Foto 4 "b").

A *origem* do mdli$_1$ é a area antero-mediana do segmento "estigmatoforo", a começar no meio do tergito, na linha mediana, e a extender-se para a frente até a saliencia quitinosa, que demarca o limite anterior do tergito, sem, entretanto, atingir a zona do pre-tergito propriamente dito (Vide Fig. 6, 1.º). Ao longo da saliencia quitinosa o musculo forma uma pequena dobra transversal, acompanhando aquela (Vide Fig. 5: mdli$_1$, em frente).

Apenas poucas fibrilas anteriores do mdli$_1$ sobrepassam a saliencia, extendendo-se para alem do pretergito, onde, sem que haja linha divisoria muito nitida, continuam imediatamente numa parte do feixe muscular longitudinal — mdli$_3$ (Vide Fig. 5: mdli$_1$, em frente). Afim de poder-se vêr exatamente esta região, é preciso afastar o musculo mdli$_2$ (marcado com a letra "c" na Foto 4), como foi feito no desenho da Fig. 5.

Após a origem o mdli$_1$ percorre, estreitando-se sempre, através do tergito, por cima dos musculos longitudinais retos, cobrindo igualmente as fibrilas posteriores do mdli$_2$ (Vide Fig. 5 e Foto 4 "b" e "c"), e continua em direção ao canto postero-externo do segmento estigmatoforo. Aí, como na origem, desce em direção à epiderme subcuticular, desaparecendo por baixo de um feixe de traqueias grossas, que vêm do estigma (Vide Foto 4 "a" e "b").

Suspendendo estas traqueias, observamos que uma pequena porção do mdli$_1$ (Vide Fig. 5) a que fica no lado anterior do feixe muscular, é continuada diretamente por fibrilas longitudinais, que, por seu lado, pertencem ao mdli$_4$, a ser descrito mais tarde (Vide Foto 4 "f"). Estas fibrilas longitudinais são sobrepassadas em seu começo por um feixe reto de um musculo dorso-ventral (Vide Foto 4 "g").



No local da transição das mencionadas fibrilas do $mdli_1$ para os feixes do $mdli_4$ podemos perceber nitidamente a inserção do primeiro e a origem do ultimo na epiderme subcuticular, estando ambas estas zonas muito proximas uma da outra.

A massa principal de $mdli_1$, porém, extende-se mais para trás e aproxima-se diretamente à epiderme, para inserir-se, finalmente, na saliencia antero-lateral do tergito do segmento astigmatoforo e, em parte, nos escleritos pre-tergitais externos do mesmo.

O local desta inserção só pode ser observado pelo lado ventral, após o afastamento do musculo dorso-ventral e dos feixes anteriores do $mdli_4$ acima referidos. O musculo não termina diretamente na epiderme, mas esta forma tonofibrilas muito longas, principalmente nas fibras dorsais. Nestas originam-se no lado oposto novas fibrilas musculares que devem ser consideradas como sendo a continuação do $mdli_1$ e que formam um feixe pleural.

Estas ultimas correm imediatamente por baixo da epiderme, sendo cobertas por musculos dorso-laterais. Afastando estes ultimos, vêmos que as mencionadas fibrilas inserem-se na zona dorso-pleural, na margem antero-externa do tergito do segmento astigmatoforo, proximo à curva da *"carina lateralis"*.

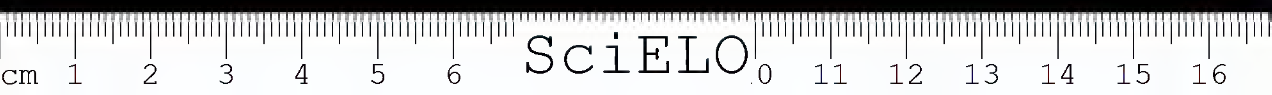
Movendo a pata deste segmento, tambem estas zonas pleurais se movem, exercendo tração, principalmente sobre as fibrilas que são a continuação do $mdli_1$. Presumimos, por êste motivo, que as mencionadas fibrilas exercem o papel de reforçar a resistencia do $mdli_1$ durante os movimentos de locomoção.

O $mdli_1$ tem por função: a) unir o segmento astigmatoforo ao estigmatoforo (pelos pontos de origem e inserção), exercendo tração indireta sobre a zona antero-externa do primeiro; b) assegurar a firmeza da zona pleural antero-superior, o que é essencial para a movimentação dos musculos da coxa; c) servir de reforço interno aos musculos dorso-longitudinais intersegmentares ($mdli_3$ e $mdli_4$) e segmentares, que ficam entre o primeiro e o tergito; d) proteger os orgãos internos, principalmente o coração e os orgãos genitais, contra contusões e raios luminosos muito intensivos; e) favorecer a respiração, pois pelo funcionamento deste feixe muscular as traqueias e traqueolas (visiveis na Foto 4 "a"), ora ficam alargadas, ora comprimidas, o que concorre para a renovação do ar.

O $mdli_1$ ocorre, como já dissemos, em todos os segmentos estigmatoforos, portanto nos Escolopendrideos, Parotostigmineos, Criptopideos e Otocriptopideos nos segmentos: 3, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 e (22); nos *Rhysida*, Scolopocriptopideos e *Newportia* nos segmentos: 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 e (22).

No ultimo caso o $mdli_1$ do 7.º segmento é um pouco mais fraco que o do 8.º

O *musculo dorso-longitudinal intersegmentar "secundus"* ($mdli_2$ — Vide Figs. 4 e 5 e Foto 4 "c") é para o segmento astigmatoforo o que é o $mdli_1$ para



o estigmatoforo. Localiza-se imediatamente em frente ao ultimo, como pode-se ver na Foto 4, sendo, porém, mais estreito e mais longo do que este. Apresenta forma ligeiramente triangular (Vide Fig. 5).

A *origem* do $mdli_2$ está no primeiro terço da zona mediana do segmento astigmatoforo, um pouco mais proxima da linha mediana que a do $mdli_1$. A massa principal do $mdli_2$ origina-se diretamente na epiderme, sem atingir a saliencia quitinosa que demarca o limite entre o tergito e o pre-tergito (Vide Fig. 5: $mdli_2$). Algumas fibrilas internas, porém, dirigem-se mais para a frente e abraçam dorsalmente o feixe mediano do musculo dorso-longitudinal intersegmentar "tertius" (Foto 4 "d"), para unir-se com um feixe mediano do "mdls" (Vide Fig. 6, 2.º).

A epiderme forma, nas zonas de origem, tonofibrilas muito longas e numerosas que, na linha mediana, aproximam-se muito do vaso sanguineo, protegendo-o contra influencias prejudiciais do ambiente.

O percurso do $mdli_2$ pode ser observado na Foto 4 e na Fig. 5. Obedece à mesma direção que o $mdli_1$, estreitando-se progressivamente. Logo em seguida à origem seus feixes formam uma curva, passando por cima dos musculos "d" e "e" (Vide Foto 4).

Atingindo os limites entre o segmentos astigmatoforo e estigmatoforo, o $mdli_2$ é coberto parcialmente pelo $mdli_1$ (Vide Foto 4 "b" e "c" e Fig. 5). Aproxima-se, então, novamente do tergito, desaparecendo, por completo, por baixo do $mdli_1$.

O $mdli_2$ apresenta, portanto, o mesmo percurso que o $mdli_1$, sendo separado deste por alguns canais traqueanos, dos quais se desprendem traqueolas delgadas, que se perdem por entre os feixes do $mdli_2$.

Para que possamos ver o percurso da ultima parte do $mdli_2$ é preciso afastar o $mdli_1$.

A "inserção" do $mdli_2$ é tripla: uma pequena porção insere-se exatamente no local, em que se originam os musculos que continuam o $mdli_1$: uma outra porção, após uma inserção fraca e pouco nitida, é continuada diretamente por uma parte das fibrilas do musculo dorso-ventral (Vide Fig. 5 "mdv" e Foto 4 "g"); a massa principal do $mdli_2$, porém, aproxima-se do ponto de inserção do $mdli_1$ e insere-se conjuntamente com este na epiderme, sendo continuado imediatamente (analogamente a uma porção do $mdli_1$) por um feixe do $mdli_4$.

A inserção da porção principal corresponde às ilhotas quitinosas da zona antero-lateral do segmento astigmatoforo, area esta um pouco anterior à da *"insertio"* do $mdli_1$.

O $mdli_2$ é, portanto, muito longo, ligando um segmento astigmatoforo a outro astigmatoforo e saltando cada vêz o estigmatoforo.

Nos generos de Quilopodos em que o 6.º e 7.º segmentos são astigmatoforos, o $mdli_2$ repete-se imediatamente.

A função do $mdli_2$ é identica à do $mdli_1$, como ressalta pelo mesmo percurso e os mesmos pontos de origem e inserção.

Provocando movimentos de locomoção, vêmos que, contraíndo-se os $mdli_1$ e $mdli_2$ de um lado, ipso facto se distendem os do outro lado.

O *musculo dorso-longitudinal intersegmentar "tertius"* ($mdli_3$: Vide Fig. 5 e Foto 4, "d" e "e") forma o principal feixe longitudinal, no sentido estrito (Segundo a nomenclatura de Voss seria o $mdli_1$).

Os pontos de origem e inserção do $mdli_3$ são cobertos pelos dois musculos "dorsais obliquos" acima descritos, sendo visivel apenas um curto trecho de seu percurso (Vide Foto 4 "d" e "e"). Nos segmentos 6 e 7 dos Escolopendrideos nem neste trecho podem ser vistos pelo lado ventral.

Para vermos toda a extensão do $mdli_3$, é necessario afastar o $mdli_1$ e o $mdli_2$, como foi feito no lado direito da Fig. 5. Grande numero de traqueolas subdividem este musculo em 2 a 3 subfeixes (Vide Foto 4 "d" e "e"), ora mais unidos, ora separados por meio de fendas estreitas.

O $mdli_3$ conserva em todo o seu percurso a zona estritamente mediana. Os subfeixes são aproximadamente da mesma grossura, variando apenas nos lugares de origem e inserção. Apenas o feixe externo (Foto 4 "e") é mais espesso do que o mediano. São separados por ramificações traqueanas (Foto 4 "a").

O $mdli_3$ apresenta os mesmos pontos de origem e inserção, i. é — apenas termina o feixe anterior, continua imediatamente o seguinte, sendo separados apenas por uma zona tonofibrilar. As tonofibrilas são muito longas neste local, devido ao fato da existencia de outros musculos segmentares, localizados entre o $mdli_3$ e a epiderme, impedindo maior aproximação do $mdli_3$.

Os pontos de origem e inserção localizam-se no mesmo segmento em que se origina o $mdli_1$, com a diferença de serem mais aproximados à zona intersegmentar (Vide Fig. 5: $mdli_3$). As tonofibrilas, que servem de *origem* ao musculo, pertencem à zona da saliencia quitinosa da parte anterior do tergito do segmento estigmatoforo; as tonofibrilas de *inserção*, porém, caem na zona dos escleritos (Vide Fig. 2 "a") do mesmo segmento, portanto um pouco adiante da zona de origem.

O $mdli_3$ atravessa todo o comprimento do tronco, sendo os feixes tão unidos entre si que, afastando-se um com a pinça, seguem-no os seguintes automaticamente.

O feixe mediano do $mdli_3$ (Vide Foto 4 "d") origina-se um pouco atrás do lateral, sendo deslocado pela origem do $mdli_1$. Em seu começo é estreito, sendo

coberto parcialmente pelo lateral. Perto de sua inserção é abraçado por traqueolas, que o separam em dois subfeixes medianos, um dorsal, perto da epiderme, e um ventral, próximo ao primeiro. A *inserção* do subfeixe ventral tem lugar num dos escleritos do pre-tergito. Deste local originam-se tonofibrilas longas, nas quais principiam todas as fibras do feixe mediano seguinte.

O subfeixe dorsal, porém, alarga-se em forma de leque, inserindo-se seu ramo interno conjuntamente com o subfeixe ventral. Seu ramo externo, ao contrario, envolve dorsalmente o feixe lateral e insere-se, formando um curto tendão, numa parte do $mdli_4$.

Sendo a origem do feixe mediano do $mdli_3$ deslocada para o primeiro terço do tergito do segmento estigmatoforo, portanto bastante afastada da margem anterior quitinisada, não coincide com ela a inserção. Em compensação, porém, ambos estes pontos são unidos por tonofibrilas longas.

Nos generos de Quilopodos em que o 6.º e o 7.º segmentos são astigmatoforos, o $mdli_3$ é segmentar, coincidindo a inserção do ramo externo do subfeixe dorsal mediano com à do $mdli_4$.

O feixe lateral do $mdli_3$ (Vide Foto 4 "e") é muito largo, principalmente nas zonas de origem e inserção. Estando um pouco mais afastado da epiderme dorsal do que o mediano, cobre o ultimo, parcialmente. Durante o seu percurso é dissolvido por traqueolas em delgados subfeixes que, por seu turno, logo se unem de novo.

O local de origem deste feixe lateral é a parte anterior do tergito do segmento estigmatoforo. Ai podemos distinguir dois subfeixes: um interno, e outro externo, tres a quatro vezes mais largo do que o primeiro. O interno vai em direção à linha mediana, cobrindo parcialmente pelo lado ventral o feixe mediano do $mdli_3$ e insere-se no pre-tergito, sendo continuado imediatamente pela porção estreita do $mdli_1$, como já vimos.

A parte externa, larga, insere-se e origina-se aí mesmo, somente um pouco mais para trás, formando tonofibrilas e curtos tendões. Estes tendões servem igualmente aos musculos dorsais segmentares de origem e de inserção (Vide Fig. 6: mdls).

No 6.º e 7.º segmentos o $mdli_3$ é segmentar.

O *musculo dorso-longitudinal intersegmentar "quartus"* ($mdli_4$ — Vide Fig. 5 e Foto 4 "f") é muito mais delgado do que o $mdli_3$, sendo em grande parte coberto por este. Em alguns lugares alarga-se sensivelmente.

A origem do $mdli_4$ é formada pela zona anterior do tergito do segmento astigmatoforo, nas imediações dos sulcos episcutais. Só atinge a epiderme com uma pequena porção de suas fibrilas, enquanto que a massa principal origina-se em tendões, formados pela origem e inserção dos musculos dorsais segmentares.

Sua inserção coincide com a origem do feixe seguinte com a diferença de ser dividida nos seguintes feixes: uma pequena parte de suas fibrilas externas coincide com as inserções do $mdli_1$ e do $mdli_2$ (como já vimos), de maneira que formam a continuação reta destes no segmento seguinte; a parte mediana insere-se num tendão, no qual se originam musculos longitudinais segmentares; uma outra parte, após curta inserção, é continuada por um musculo dorso-pleural e o resto de suas fibrilas internas forma um tendão de inserção comum com algumas fibras do $mdli_3$ (como vimos), que serve de origem ao $mdli_4$ seguinte e a alguns musculos dorso-longitudinais segmentares.

Como se vê, a musculatura dorso-intersegmentar, apesar de constar apenas de 4 musculos, 2 obliquos e 2 retos, forma, contudo, um conjunto muito complexo.

Os *musculos dorso-longitudinais segmentares* ($mdli_2$ de Voss) são localizados imediatamente por baixo da epiderme subcuticular. São dissolvidos em diversos subfeixes, retos alguns, obliquos outros. Todos eles são curtos, originando-se na zona anterior do tergito e inserindo-se na borda posterior do mesmo.

A origem e inserção dos retos coincidem com os feixes intersegmentares retos, o $mdli_3$ e o $mdli_4$, respectivamente. Traqueolas diminutas separam os musculos segmentares, dos quais as camadas obliquas são localizadas imediatamente sob a epiderme. Na linha dorso-mediana existem apenas feixes retos muito achatados, enquanto que nas zonas laterais os musculos segmentares são espessos e obliquos.

Nem todos os feixes retos são extritamente segmentares. Assim os que estão em contacto com o $mdli_4$ são um pouco mais longos (Vide Fig. 6 — mdls do lado esquerdo), extendendo-se alem dos limites segmentares. A origem e a inserção destes feixes são muito juntas, separadas apenas por tonofibrilas curtas.

Imediatamente por baixo da epiderme existem feixes obliquos, mais acentuados nos segmentos astigmatoforos. Originam-se no primeiro terço do tergito na zona interna e terminam na dobra posterior do mesmo, no lado externo (Vide Fig. 6: mdls — do lado direito).

Dentro da dobra da parte posterior de cada tergito existe um feixe, que, porém, não é longitudinal mas francamente circular. Não sabemos, si é derivado da musculatura longitudinal primitiva ou si é um resto ainda da musculatura dos "dissepimentos" dos Anelideos. Não raras vezes passa alem da dobra e, neste caso, deve ser considerado um elemento proprio aos pre-tergitos, originando-se nos escleritos dos mesmos.

Os feixes longitudinais segmentares retos localizam-se entre os obliquos e os intersegmentares.

Musculos ventro-longitudinais — Os musculos ventro-longitudinais (Vide Foto 5:4 e 5) são muito mais divididos em feixes e subfeixes do que os dorsais

segmentares. Quasi todos obedecem a direção longitudinal, havendo apenas ligeiros desvios nos musculos longitudinais, proximos à linha mediana do esternito.

Por entre estes musculos e a epiderme do esternito medeia ainda uma camada espessa de feixes pleurais (restos da camada circular dos Anelideos), visiveis na linha mediana da Foto 5. Estes (os musculos "subcoxales sternales") impedem que os feixes ventrais longitudinais se aproximem diretamente da epiderme. Por isso nunca vemos um feixe ventro-longitudinal originar-se ou inserir-se diretamente na epiderme, nem tão pouco existem as tonofibrilas longas, tão frequentes nos musculos dorsais.

Em compensação, os pontos de origem e inserção dos musculos ventro-longitudinais são demarcados por tendões. Estes são extremamente fortes e transformam-se mesmo em elementos quitinisados resistentes.

Para compreender bem o percurso dos feixes ventrais e, em seguida, o dos dorso-ventrais, é preciso recordar ligeiramente a morfologia dos esternitos e dos escleritos da coxa das Escolopendras.

Nos esternitos vemos 2 sulcos longitudinais. VERHOEFF, *in* Bronns — Klassen u. Ordnungen des Tierreiches, 1925, diz à pag. 23: "Frequentemente observa-se uma fossa longitudinal mediana ou então duas fossas longitudinais laterais que, porém, não correspondem aos sulcos episcutais, mas representam apenas ligeiras dobras". No recente trabalho — "Os Quilopodos do Brasil" — Mem. do Instituto Butantan, 1939, puzemos em duvida esta afirmação de VERHOEFF. Achamos não tratar-se nem de dobras, nem de fossas, mas de verdadeiros sulcos que separam pelo menos a exo- e a endocuticula do esternito. Os dois sulcos longitudinais nem sempre atravessam o esternito até o fim. Frequentemente terminam numa fossa horizontal, só visivel em preparados diafanizados, existente no ultimo terço do esternito. Desta maneira a placa ventral goza de relativa elasticidade, fator importante para a movimentação dos escleritos da coxa, quasi unidos ao esternito. Portanto, si os sulcos longitudinais fossem apenas ligeiras dobras, que não interrompessem a continuidade da placa quitinosa, como parece insinuar VERHOEFF no trecho citado, então os feixes musculares ventrais e dorso-ventrais exerceriam quasi nenhuma influencia sobre os movimentos locomotores.

A coxa, constituida por diferentes peças quitinosas descansa nas peles membranosas das pleuras. Estas formam dobras elasticas, de maneira que, pela tração muscular, toda a zona pleural, que rodeia a coxa, muda de nivel. Desta maneira a pata pode mover-se da frente para trás, movimento este impossivel entre a coxa e o trocanter, por causa da apofise quitinosa anterior e de uma menor posterior. Estas duas formações quitinosas servem de esteio e de pontos de articulação para os movimentos de cima para baixo entre a coxa e o trocanter prefemur.

Na coxa e nas pleuras inserem-se os musculos locomotores diretos e indiretos, como veremos a seguir.

Ao lado interno de cada esternito da Escolopendra vemos um tendão fraco no limite anterior, um tendão mais forte na mesma zona, porém, no limite posterior, dentro da dobra formada pela junção de dois esternitos e, finalmente, um tendão muito forte, localizado no meio do esternito, a correr em direção às pleuras. Os tres, principalmente o mediano, formam chapinhas internas quitinisadas, nos quais inserem-se os musculos ventro-pleurais e os "sternales-subcoxales".

O primeiro e o segundo tendão atravessam todo o esternito. Em seu começo são mais rijos e prosalientes, constituindo uma apofise interna, quitinisada, semelhante à formação existente no torax dos insetos e chamada de "spina". Destes dois tendões parte, no local em que se insere o musculo "a", um tendão que continua em direção às pleuras, constituindo os pontos de origem e inserção do musculo ventro-longitudinal intersegmentar. Do mesmo local parte um outro tendão, que, formando uma apofise quitinisada, descreve ligeira curva unindo-se pelo lado anterior, com a chapa do meio, que está ligada com a "costa coxalis" da eucoxa inferior.

Esta ultima principia perto da linha mediana, no meio do esternito. Engrossa em seguida, dirigindo-se para as pleuras. Aí estabelece contacto com a "costa coxalis", e, no outro lado, com a outra apofise da coxa e com os elementos quitinosos que vem da "spina". Corresponde, portanto, à formação que no torax dos insetos chamamos de *"furca"*.

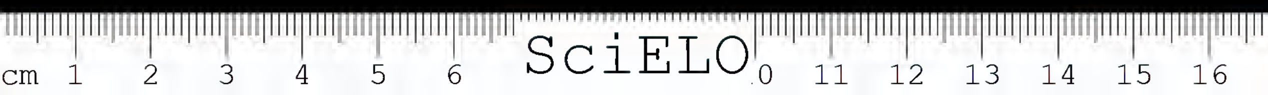
Vemos, por conseguinte, que os Quilopodos nos podem dar valiosos esclarecimentos filogeneticos sobre a origem da *spina* e da *furca* e, consequentemente, dos musculos que unem estes elementos quitinosos.

Os *musculos ventro-longitudinais* são um tanto afastados dos esternitos, comunicando com os ultimos, como já vimos, por meio de tendões. Dividimos estes musculos em *segmentares* e *intersegmentares*.

Os *musculos ventro-longitudinais segmentares* (Vide Foto 5:4 e 5 — mvls) são um tanto afastados da linha mediana.

O *musculo ventro-longitudinal segmentar "primus"* ($mvls_1$ Foto 5:4) ocorre em todos os segmentos, sendo sempre de igual tamanho e forma. Percorre o esternito em toda a sua extensão, correndo paralelo à linha mediana. *Origina-se* no tendão anterior, existente na dobra entre dois esternitos. A origem é coberta pelo musculo horizontal (Foto 5 "a"), e, em seguida, pelos musculos dorso-ventrais (Foto 5: 6, 7).

No começo o $mvls_1$ é muito espesso, estreitando-se progressivamente durante o percurso. Na zona posterior do esternito já é muito estreito, desaparecendo por baixo de um musculo localizado a seu lado (Foto 5:5).



A inserção do $mvls_1$ é estabelecida pelo tendão seguinte localizado no limite entre este e o esternito seguinte. O $mvls_1$ insere-se um pouco abaixo do musculo $mvls_2$ (5: na Foto 5).

Este tendão, como tambem o anterior, é estabelecido pelo concurso de muitos feixes musculares, entre os quais se salientam os musculos: "a" 3, 4, 5, 6, 7, todos visiveis na Foto 5, concorrendo: "a" 3, 4 e 5 para a formação do tendão posterior e: "a" 4, 6, 7 para a formação do tendão anterior.

Ambos os tendões principiam na linha mediana dos esternitos com um curto tendão longitudinal visivel na Foto 5, do qual parte, no lado ventral do musculo: "a", o mencionado tendão "intersegmentar".

Portanto, estes dois tendões, após evolução ulterior, constituem nos insetos as apofises quitinisadas, chamadas "*spinae*" e consequentemente o $mvls_1$ é o prototipo do mvl_1 dos metameros toracicos dos insetos, correndo de *spina* em *spina*, perto da linha mediana do "*sternum*".

O *musculo ventro-longitudinal segmentar "secundus"* ($mvls_2$: Vide Foto 5, 5) localiza-se ao lado do $mvls_1$, apresentando forma semelhante a este. E' largo na frente, estreitando-se progressivamente atrás.

Este feixe muscular *origina-se* no tendão que corresponde à "*furca*" dos insetos, portanto na zona lateral do esternito, no lado interno dos feixes ventro-longitudinais "intersegmentares". No ponto de origem forma um tendão curto, comum com o musculo: "a" da Foto 5: $mvls_3$.

O local da inserção é comum com a do $mvls_1$, ainda que esteja no lado dorsal da ultima.

O *musculo ventro-longitudinal segmentar "tertius"*: $mvls_3$ (Vide Foto 5 "a"), parece, à primeira vista, ser um resto da musculatura dos "dissepimentos", existente entre um e outro metamero dos Anelideos, fato indicado pela posição nos entre-esternitos e pelo percurso horizontal. Pesquisas minuciosas revelaram-nos, porém, que de fato se trata de um feixe longitudinal segmentar, muito obliquo, o antagonista do $mvls_2$ (5, na Foto 5). Provamos esta afirmação, por ser este musculo muito afastado da epiderme, de maneira que cobre parcialmente os feixes: 4, 6 e 7 (Foto 5); em segundo lugar porque se origina num tendão comum com o $mvls_2$; em terceiro lugar porque se insere na apofise, que corresponde à "spina" dos insetos e em quarto lugar, porque não existe outro feixe muscular nos Escolopendrideos, que correspondesse exatamente aquele que, nos insetos, corre da "spina" para a "furca".

O $mvls_3$ corre, portanto da "furca" para a "spina", enquanto que o $mvls_2$ parte da mesma "furca", correndo, porém para a "spina" posterior.

A posição circular do mvls$_3$ é explicada pelo fato de que a "furca" não corresponde exatamente à linha mediana do esternito e que os esternitos não são localizados diretamente sob os tergitos, mas um pouco atrás. Desta maneira o feixe muscular mvls$_2$ é muito longo, indo do limite anterior do esternito até ao limite posterior. Consequentemente o mvls$_3$, inserindo-se no local, que corresponde à "spina" e originando-se no mesmo ponto que o mvls$_2$, não pode correr de trás para diante, mas deve obedecer a um percurso horizontal.

No torax dos insetos estes dois musculos mudaram de posição, porém, conservaram os mesmos pontos de origem e inserção.

O mvls$_2$ e o mvls$_3$ exercem a função de "remotores e promotores ventrales subcoxae", pelo menos indiretamente através da sua tração sobre os pontos de origem e inserção do musculo ventro-longitudinal "intersegmentar". Deste fato ressalta que, nos Escolopendrideos, em que a parte ventral da coxa já está quasi soldada com o esternito, estes dois feixes musculares já perderam sua função direta, passando o mvls$_2$ a ser um musculo ventro-longitudinal e o mvls$_3$ um horizontal.

O *musculo ventro-longitudinal "intersegmentar"* (mvli) forma uma camada muito espessa, sendo dissolvido em 2 a 3 subfeixes. (Não é visivel na Foto 5). Não se trata propriamente de um musculo intersegmentar no rigor da palavra, mas denominamo-no assim porque a sua disposição não coincide com os segmentos externos.

Esta camada muscular é estritamente longitudinal. Corre de "furca" em "furca". Nestes pontos origina- e insere-se por meio de um tendão obliquo, localizado perto da borda posterior de cada esternito. No lado interno, portanto perto da linha mediana do esternito, o tendão dirige-se para a frente, unindo-se no meio do esternito com o tendão mediano, que vem da "spina", como já temos dito.

O "mvli" está pela sua origem e inserção em contacto direto com o mvls$_2$, o mvls$_3$ e com outros feixes dorso-ventrais e pleurais.

Nos insetos este musculo corre de furca em furca. H. WEBER, *in* "Lehrbuch der Entomologie", Jena, 1933, diz à pag. 132: "que não se pode interpretar este musculo como sterno-subcoxalis primitivo, inutilizado em sua função pela unificação da subcoxa com o *sternum*". O citado A. opina, então, pela opinião de tratar-se de um feixe muscular ventro-longitudinal segmentar que primitivamente corria de "spina" em "spina" e depois começou a emigrar para as regiões da furca.

. No caso dos Escolopendrideos este musculo ainda se encontra na zona das duas "spinae"; os seus pontos de origem e inserção, porém, já apresentam contacto direto com as furcas. Achamos, por conseguinte, que a emigração da "spina" para

a furca verificou-se conjuntamente com a transformação e treslocação da furca, oriunda pela junção de tendões quitinisados, já descritos.

A função dos musculos ventro-longitudinais traduz-se na aproximação e no afastamento dos segmentos, quer pela contração, quer pela distensão. Auxiliam igualmente o processo respiratorio pelo arejamento das traqueias e, finalmente, exercem indiretamente papel na movimentação das patas.

2) MUSCULOS DORSO-VENTRAIS

(mdv. — Vide Fotos 5:3, 6, 7 e 8)

Os musculos dorso-ventrais constam de segmentares e intersegmentares. Os ultimos formam apenas um feixe fraco, enquanto que os segmentares são numerosos e fortes.

O *musculo dorso-ventral intersegmentar* (mdvi) corre do meio do esternito (da região que nos insetos forma a furca) para a zona antero-lateral do tergito seguinte. O lugar de *origem* é constituido pelo tendão, comum com um outro feixe dorso-ventral segmentar e localizado no meio de cada esternito, por cima da chapinha quitinisada. O percurso do "mdvi" procede ao longo dos escleritos do pre-tergito, de maneira que este musculo parece ser um resto da musculatura dos "dissepimentos" dos Anelideos.

Por baixo do "mdvi", portanto, mais proximo da região pleural, existe mais um feixe intersegmentar (Vide Foto 5:9). Este é muito espesso, apresentando igual percurso como o "mdvi", de maneira que podemos presumir tratar-se de dois feixes, que nos Anelideos formavam um unico originado pela musculatura circular.

Nos Escolopendrideos este novo feixe intersegmentar distingue-se do "mdvi" pelo seu ponto de inserção, que coincide com a origem dos feixes ventro-longitudinais intersegmentares. Estes feixes formam um tendão horizontal como já vimos e, neste tendão, no lado externo, termina o mencionado musculo intersegmentar; no lado interno, na mesma altura origina-se o $mvls_3$.

Em seu percurso o feixe "9" (Vide Foto) cobre a inserção do feixe "7" e termina no tergito, perto da margem lateral.

Entre os musculos dorso-ventrais segmentares devemos distinguir os seguintes feixes: *o musculo dorso-ventral segmentar "primus"* (Vide Foto 5:6) ou *posterior*. Este musculo parte da zona anterior do esternito e vai à zona posterior do tergito, devendo, portanto, ser considerado como um feixe obliquo. Muitas vezes transgride levemente o limite do tergito, terminando então nos

escleritos do pre-tergito seguinte, por entre a borda lateral e os sulcos episcutais, de maneira que pode ser considerado como sendo intersegmentar no sentido mais amplo.

A *origem* do mdvs$_1$ é formada por um tendão longo, formado pela epiderme na linha mediana de cada esternito (exatamente em frente ao tendão longitudinal "a" da Foto 5, mas invisivel nesta Foto). Neste local encontram-se os tendões, dois dos lados opostos. Durante o percurso cada um passa por baixo do musculo "a" (Foto 5), servindo de ponto de origem ao mvls$_1$, e, em seguida, terminam neles os musculos 3 e 5 no lado anterior do feixe "a" e o musculo 7 no fim do tendão (Vide Foto 5).

Em seguida o mdvs$_1$ engrossa progressivamente, dirigindo-se para a margem externa do esternito. Sobe, então, paralelamente às paredes pleurais, em direção ao tergito, aproximando-se ao lado externo do feixe 3 (Foto 5).

O mdvs$_1$ *insere-se* na ultima porção do tergito, entre a carina lateral e os sulcos episcutais, exatamente debaixo do feixe do "mdvi". No local da inserção apresenta maior espessura, sendo coberto parcialmente pelos musculos dorso-longitudinais segmentares obliquos e por um feixe dorso-ventral que ainda será descrito.

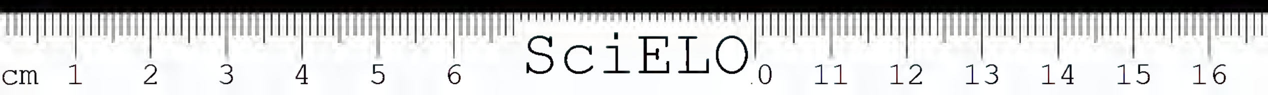
O mdvs$_1$ ocorre em todos os segmentos, sendo de notar que nos estigmatoforos torna-se ainda mais obliquo, cobrindo parcialmente as traqueias ventrais, antes de terminarem no calice interno do estigma. Presuminos, portanto, que este musculo, além de unir o tergito ao esternito, seja um grande fator tambem na renovação do ar.

O *musculo dorso-ventral segmentar "secundus"* (mdvs$_2$ — Vide Foto 5:7) localiza-se em frente ao feixe mdvs$_1$. Origina-se no tendão do mdvs$_1$, cobrindo o começo deste ultimo. Continua em direção ao tergito, não sendo, porém, tão obliquo como o mdvs$_1$. Durante o percurso aumenta em espessura. Perto de seu fim aproxima-se do lado anterior, externo do musculo 3 (Foto 5). O mdvs$_2$, portanto, extende-se um pouco mais para a zona pleural do que o mdvs$_1$.

A *inserção* é localizada no tergito, numa zona mediana posterior, entre os sulcos episcutais e a carina lateral, estando em contacto imediato com os feixes dorso-longitudinais.

Nos segmentos estigmatoforos esta camada muscular é deslocada um pouco pelas traqueias, de maneira que se distancia mais do mdvs$_1$.

O mdvs$_1$ e o mdvs$_2$ descendem indubitavelmente da camada externa, circular, da musculatura dos Anelideos. A sua origem num tendão comum demonstra tratar-se de elementos musculares que formavam primitivamente um unico feixe dorso-ventral: — *o promotor primitivo da subcoxa*. Nas Escolopendras já se realizou sua divisão em dois feixes isolados dorsalmente, enquanto que



nos Insetos a divisão já é completa, sendo os dois feixes separados tambem no "sternum". Aí constituem o mdv_1 que vai do "notum" para o "basisternitum", e o mdv_2, do "notum" para o "laterosternitum".

Nos Insetos estes dois feixes são novamente unidos quasi no "notum".

Nos Quilopodos os $mdvs_1$ e $mdvs_2$ não apresentam mais contacto com a coxa, mas são apenas pontos de apoio, que unem o tergito ao esternito, oferecendo, desta maneira, bases de resistencia aos feixes que executam os movimentos locomotores.

O *musculo dorso-ventral segmentar "tertius"* ($mdvs_3$ — Vide Foto 5:3) corre em sentido inverso do $mdvs_2$, i. é, principia na zona posterior do esternito e sobe em direção ao tergito, no lado interno dos feixes 6 e 7 (Foto 5), terminando na margem antero-lateral do tergito do mesmo segmento.

O $mdvs_3$ forma um feixe muito espesso, constando de 2 a 3 camadas sobrepostas, separadas levemente por finas traqueolas. Atinge a maior largura no lado dorsal, estreitando-se progressivamente. Nos segmentos estigmatoforos é deslocado um pouco para trás, cobrindo as traqueias posteriores. Ocorre em todos os segmentos.

Origina-se, como já vimos e como ressalta da Foto 5, num tendão, que parte do lado ventral do musculo "a", e que comunica com o tendão dos musculos 6 e 7 (Foto 5).

O $mdvs_3$ *insere-se* na zona antero-lateral do tergito do mesmo segmento, perto da dobra, formada pela carina lateral. Nesta zona é continuado parcialmente pelo $mdli_1$ ou o $mdli_2$, respectivamente, como já descrevemos, quando tratamos destes 2 feixes. O resto, após curta inserção, é continuado pelos musculos dorso-longitudinais segmentares obliquos. Uma pequena porção insere-se diretamente na epiderme dorsal ao longo do lado externo dos sulcos episcutais, no primeiro terço do tergito.

O $mdvs_3$ descende filogeneticamente da musculatura circular dos Anelideos, correspondendo ao "remotor primitivo da subcoxa", não estabelecendo, porém, contacto direto com a ultima, de maneira que deve ser considerado como sendo apenas um "remotor" indireto, i. é, unindo as partes anteriores do tergito com as posteriores do esternito. Favorece consideravelmente os movimentos da coxa.

O *musculo dorso-ventral segmentar "quartus"* ($mdvs_4$) corre da linha mediana do esternito para o tergito, dividindo-se em 2 ramos, que iniciando-se no mesmo tendão, divergem em seu percurso.

O ramo posterior é visivel na Foto 5:8, enquanto que o anterior fica totalmente coberto pelos feixes 3, 4, 5, 6 e 7.

A *origem* deste musculo duplo é constituida pelo tendão já mencionado. Este principia no local do sulco longitudinal do esternito, no meio da placa, dirigindo-se em seguida de encontro às pleuras sem, entretanto, atingí-las. Estabelecendo contacto com a origem e inserção dos feixes ventro-longitudinais intersegmentares, sobe entre estes e os musculos 5, 6 e 7 para o tergito.

O ramo anterior *termina* no ultimo quarto do tergito, entre a carina lateral e o sulco episcutal. O ramo posterior, separado deste pelo musculo 6, termina na mesma região, apenas porem um pouco mais atrás, no limite entre um e outro tergito.

Todos estes musculos dorso-ventrais segmentares partem, portanto, ou do tendão, localizado no limite entre dois esternitos, ou do tendão do meio do esternito. Estabelecem contacto com os mvls ou os mvli. Aliás os feixes destes ultimos são localizados mais perto da zona pleural do que da central, separando os musculos dorso-ventrais das pleuras.

* * *

Queremos, antes de prosseguir no assunto, comparar os musculos longitudinais e dorso-ventrais de alguns generos de Geofilomorfos e Litobiomorfos com a musculatura das Escolopendras. Assim poderemos acompanhar a evolução do sistema muscular, a começar das 2 camadas, a circular externa e a longitudinal interna dos Anelideos. Nos Geofilomorfos, que formam o grupo mais primitivo entre os Quilopodos, já se acentua uma separação destas 2 camadas em feixes e subfeixes, simples, facilmente reduziveis às camadas primitivas. Nos Litobiomorfos surgem novos elementos musculares, ainda não evoluidos nos Geofilomorfos. Nas Escolopendras, finalmente, vemos representado o tipo mais evoluido, com subdivisão, superposição e deslocamentos das fibras musculares e um grande afastamento da musculatura primitiva dos Anelideos, de um lado, e uma aproximação surpreendente ao sistema muscular dos Insetos Apterigogeneos e Hexapodos, do outro.

A musculatura longitudinal dos Geofilomorfos: *Aphilodon micronyx* Bröl., 1901; *Orphnaeus brasiliensis* Mein., 1870; *Schendyla paulista* Bröl., 1903 e *Geophilus sublaevis* Mein., 1870, especies estas que representam 4 generos, obedece ao seguinte quadro:

Por baixo dos tergitos e pretergitos (os ultimos costumam ser subdivididos por suturas em escleritos, parcialmente soldados) observamos 3 camadas musculares, duas superiores segmentares e uma inferior intersegmentar. As primeiras ocorrem nos tergitos principais e nos pre-tergitos, de maneira que estes ultimos gozam de musculatura propria. A primeira camada segmentar é obliqua, correndo do centro da borda anterior para o lado externo da borda posterior. Nos tergitos principais esta camada se desdobra em dois subfeixes. Além disso, existe nestes segmentos mais uma camada dorso-longitudinal segmentar obliqua que corre do centro da borda posterior para o lado externo da borda anterior.

A segunda camada segmentar abrange feixes longitudinais retos que se extendem da borda anterior para a posterior.

A camada dorsal intersegmentar passa por baixo das segmentares, correndo da borda anterior do pre-tergito à borda posterior do tergito principal. São feixes retos que unem o tergito "intercalar" com o principal. Em seus pontos de origem e inserção unem-se pelo lado inferior com os feixes segmentares.

Em *Eulithobius* (examinamos uma serie de exemplares pertencentes a este subgenero e comparamô-la com os Litobiomorfos, descritos por VERHOEFF *in* BRONN's — Klassen u. Ordnungen des Tierreiches, *Chilopoda*, 1902-1925) observamos os mesmos feixes musculares dorsais, obliquos, retos e intersegmentares, com a diferença, porém, de os musculos dos pre-tergitos serem mais fracos, enquanto que os dos tergitos principais aumentam em espessura, sendo os intersegmentares já subdivididos em subfeixes paralelos.

Esta subdivisão acentua-se ainda mais em *Scolopendra*: os feixes segmentares obliquos são muito espessos e correm da borda anterior, do centro, para o lado externo da borda posterior; os feixes segmentares retos vão de borda em borda. Tanto estes, como aqueles, pertencem exclusivamente aos tergitos principais. Os pre-tergitos são pequenissimos, carecendo de musculatura propria.

Os musculos intersegmentares, ao contrario, evoluiram a uma grande espessura, subdividindo-se em retos e obliquos e unindo sempre dois segmentos principais imediatos.

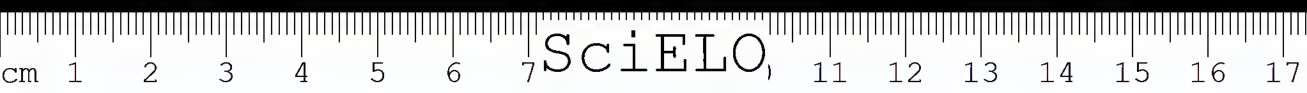
Nestes tres grupos verificou-se, portanto, uma diminuição gradativa dos segmentos "intercalares" e consequentemente um treslocamento da musculatura destes para os tergitos principais.

Fato identico pode ser observado no tocante à musculatura longitudinal dos esternitos. Nos citados 4 generos de Geofilomorfos e no subgenero *Eulithobius* existem feixes ventro-longitudinais segmentares e intersegmentares, retos e obliquos, sendo os primeiros distribuidos para os segmentos principais e intercalares, onde correm de borda em borda. Os intersegmentares são pouco evoluidos. Em *Scolopendra* já não encontramos elementos musculares proprios aos escleritos pre-esterniticos. Mas isto é devido apenas ás proporções pouco evoluidas destes escleritos. Em compensação os musculos segmentares retos e obliquos e os intersegmentares formam camadas espessas.

Os musculos dorso-ventrais são relativamente pouco evoluidos tanto nos 4 generos de Geofilomorfos e no subgenero *Eulithobius* como em *Scolopendra*.

3) MUSCULOS PLEURAIS

Os musculos pleurais são segmentares, partindo do tergito, respectivamente, do esternito e dirigindo-se ás regiões pleurais. Dividimo-los em dorsais e ventrais.



Os feixes dorso-pleurais (mdpl) apresentam percurso diferente nos Geofilomorfos, nos Litobiomorfos e em *Scolopendra*. Nos 4 generos de Geofilomorfos acima citados observamos 4 feixes musculares, dois nos segmentos intercalares e dois em cada segmento principal. Partem da zona lateral do tergito e do pre-tergito e correm em direção aos pleuritos dorsais do mesmo segmento.

O $mdpl_1$ parte da zona antero-lateral do pre-tergito, dirige-se, em seguida, um pouco para a frente e insere-se no grande pleurito dorsal anterior.

O $mdpl_2$ parte da mesma zona como o primeiro, dirigindo-se porém para trás e inserindo-se na margem posterior do mesmo pleurito.

O $mdpl_3$ origina-se na zona antero-externa do tergito principal e, dirigindo-se para trás, termina no pleurito do estigma.

O $mdpl_4$ ocupa uma zona de origem muito mais vasta do que os tres outros, principiando suas fibrilas anteriores ao lado do $mdpl_3$, enquanto que as posteriores extendem-se até a zona postero-lateral do tergito principal, correndo paralelas com a margem posterior. O $mdpl_4$ insere-se no pleurito imediato ao do estigma, enquanto que algumas fibrilas, pertencentes ao mesmo feixe, terminam nos pequenos pleuritos que formam uma fileira no lado inferior do pre- e post-scutellum.

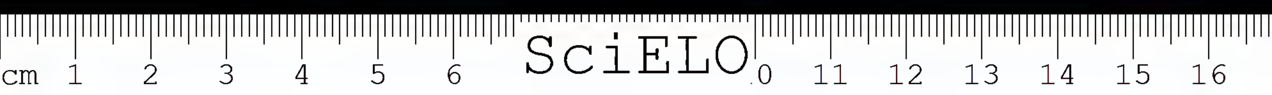
Em *Eulithobius* reencontramos os musculos dorso-pleurais sob a forma de dois feixes apenas, ambos partindo da borda anterior, respectivamente posterior da zona lateral do tergito principal, inserindo-se nos pleuritos dos estigmas e nos outros escleritos pleurais.

Fato semelhante é observado em *Scolopendra*, onde, em lugar de segmentos intercalares nitidos, são conservados (como já vimos) apenas alguns escleritos nos pre-tergitos e pre-esternitos. Os feixes dorso-pleurais partem da borda antero-e postero-lateral do tergito, inserindo-se nos pleuritos laterais, sendo mais espesso o feixe que termina no pleurito do estigma. Outras fibras do mesmo feixe inserem-se na catopleura e ainda outros na parte superior da eucoxa superior e posterior.

Os musculos ventro-pleurais (mvpl) formam nos 4 generos de Geofilomorfos tres feixes. O $mvpl_1$ origina-se no lado externo do esternito intercalar, os $mvpl_2$ e $mvpl_3$ partem da zona que marca o limite entre o esternito principal e a hipocoxa anterior, respectivamente posterior, terminando os 3 nos pleuritos.

Em *Eulithobius* apenas pudemos verificar a existencia de um musculo ventro-pleural nitido, que se insere no pleurito do estigma, na margem inferior, enquanto que, em lugar dos dois outros feixes ventro-pleurais, existem dois musculos horizontais, um, na borda anterior e o outro, na posterior do esternito indo cada um de um canto ao oposto.

Os musculos ventro-pleurais de *Scolopendra* são reduzidos aos dois feixes horizontais, um, na borda anterior e o outro, na posterior de cada esternito, ambos muito pouco evoluidos. O anterior ultrapassa porém os limites, de maneira que cobre parcialmente os escleritos dos pre-esternitos.



Comparando os musculos pleurais dos 4 generos de Geofilomorfos, de *Eulithobius* e de *Scolopendra* (estudamos sempre as seguintes especies: *Scolopendra viridicornis* Newp., 1844, *Scolopendra subspinipes* Leach, 1815 e *Scolopendra morsitans* L., 1758) com o sistema muscular das pleuras dos Insetos (H. Weber: op. cit. na bibliografia), vemos quão grande é ainda a incerteza sobre a origem filogenetica dos feixes laterais dos Insetos, principalmente dos "promotores" e "remotores coxae", que correm da borda dorsal do "episternum" ao "basicoxale" e da borda dorsal do "epimerum" ao "merum". Uma explicação poderia ser encontrada talvez nos feixes dorso-pleurais das Escolopendras, feixes estes que já atingem parcialmente os pleuritos que concorrem na formação da coxa. Aceitando a hipotese de um treslocamento das zonas de origem dos tergitos para o "episternum" e "epimerum", estes musculos de fato corresponderiam aos "promotores e remotores" dos Insetos.

4) MUSCULOS DAS PATAS

A procoxa, metacoxa e eucoxa inferior estão em *Scolopendra* em contacto imediato com o esternito, resultando deste fato a necessidade de uma união muscular direta entre os feixes medianos do esternito (m. subcoxales sternales) e as citadas partes da coxa.

Tendo Verhoeff tratado da musculatura das patas (vide bibliografia), resta-nos estudar apenas os musculos ventrais "subcoxales", presentes nos 4 generos de Geofilomorfos, em *Eulithobius* e em *Scolopendra*.

Nos citados Geofilomorfos os musculos "subcoxales sternales" são divididos em tres feixes, localizados no esternito do segmento principal. Originam-se ao longo da linha mediana da placa, sendo cobertos lateralmente pelos musculos ventro-longitudinais, e correm em direção aos escleritos pleurais que formam a hipocoxa e a procoxa, inserindo-se nestas ultimas.

Além destes tres feixes observamos outros tres, que, partindo um da borda anterior, outro do meio e o terceiro da borda posterior do esternito, atravessam a coxa, inserindo-se na base do telopodito.

Os primeiros feixes são "promotores" e "remotores" da coxa, os ultimos "pro-e remotores" do telopodito.

Na cavidade, formada pelos pleuritos da coxa, existem ainda alguns musculos curtos que correm da base da coxa ás bordas do telopodito.

Em *Eulithobius* podemos observar um sistema muscular ventro-lateral semelhante aos citados Geofilomorfos, principalmente no tocante aos musculos "subcoxales sternales".

Em lugar dos outros tres feixes vemos apenas dois musculos, porém muito longos. Originam-se no canto posterior, respectivamente, na zona mediana do

lado oposto, atravessando em seguida toda a largura do esternito e inserem-se na base do telopodito.

Musculos curtos correm igualmente da base da coxa à base do telopodito.

Em *Scolopendra* vemos representado novamente o tipo mais evoluido. Os feixes "subcoxales sternales" (visiveis na Foto 5 na zona mediana de cada esternito) são muito espessos e entrecruzam-se em seus lugares de origem.

Aí são muito espessos e subdivididos em subfeixes, enquanto que diminuem em espessura durante seu percurso. Na linha mediana do esternito unem-se dos dois lados, estabelecendo sua "origo" na epiderme.

O *primeiro* dos musculos "subcoxales sternales" principia em frente, no limite entre um e outro esternito. É dividido em dois subfeixes, inserindo-se com um subfeixe na borda anterior da eucoxa superior e com o outro na borda posterior do mesmo pleurito.

O *segundo* corre paralelo ao primeiro, tendo sua origem atrás deste e sua inserção na borda da eucoxa inferior, principalmente na apofise quitinosa da "costa coxalis".

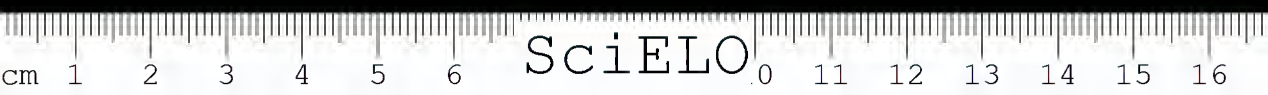
O *terceiro* origina-se na linha mediana perto da borda posterior do esternito. Durante o seu percurso é subdividido em dois subfeixes, inserindo-se o anterior na procoxa, no lugar onde esta se limita com a eucoxa superior, enquanto que o subfeixe posterior se insere na "costa coxalis", entre a eucoxa superior e inferior.

Perto deste ultimo, ao longo da borda posterior do esternito, salientam-se dois musculos longos que correspondem aos dois de *Eulithobius*, principiando ambos no canto posterior do outro lado. Atravessam todo o esternito, inserindo-se na base do telopodito, um, perto da eucoxa posterior e o outro, entre esta ultima e a eucoxa inferior.

Da base da coxa para a base do telepodito correm feixes musculares curtos que ativam as articulações da pata.

Os musculos "subcoxales sternales" aparecem igualmente nos Insetos (H. Weber: op. cit. na bibliogr.). Não se originam, porém, na linha mediana dos esternitos, mas na apofise da furca. O *primeiro* musculo é o "promotor coxae", correndo da furca para a margem anterior da coxa; o *segundo* é o "abductor do trocantero--femur", indo da furca para o tendão do trocanter; o *terceiro* é o "remotor coxae", correndo da furca para a margem posterior da coxa.

Snodgrass considera os primeiros dois como "homologon" de dois feixes que correm da linha mediana ventral para a margem anterior, respectivamente posterior, da "coxa" do parapodo dos *Poliquetas*, cobrindo os feixes longitudinais ventrais. H. Weber, ao contrario, acha isto impossivel, porque os dois musculos em questão são perifericos nos Insetos, isto é, muito distantes dos feixes ventro-longitudinais, enquanto que nos Poliquetas conservam posição central, sobrepassando os musculos longitudinais. Comparando com estes dois casos



extremos os musculos "subcoxales sternales" de *Scolopendra,* tendo em vista principalmente sua posição para com os feixes ventro-longitudinais, então a tentativa de SNODGRASS de homologuizar estes musculos não nos parece tão inverosimil como pensa WEBER. De fato em *Scolopendra* os citados musculos já não cobrem os feixes longitudinais, mas são, pelo contrario, cobertos por estes. O deslocamento da zona central para a zona da furca ainda não se realizou neste grupo, mas torna-se evidente nos Insetos pelo estabelecimento definitivo da furca e o crescimento maior das patas.

CONCLUSÃO

Pelo presente trabalho é feito um estudo comparativo da musculatura dos Quilopodos, tendo em vista tambem o sistema muscular dos Anelideos e Insetos.

Entre os Geofilomorfos estudamos os 4 generos: *Aphilodon micronyx* BRÖL., 1901; *Orphnaeus brasiliensis* MEIN., 1870; *Schendyla paulista* BRÖL., 1903 e *Geophilus sublaevis* MEIN., 1870.

Nos Litobiomorfos examinamos uma serie de exemplares do subgenero *Eulithobius* STUXB., comparando-a com os Litobiomorfos descritos por VERHOEFF (vide bibliogr.).

Entre os Escolopendromorfos estudamos o genero *Scolopendra*, servindo-nos de modelo: *Scolopendra viridicornis* NEWP., 1844; *Scolopendra subspinipes* LEACH, 1815 e *Scolopendra morsitans* L., 1758.

Como ponto de partida deste trabalho, escolhemos a *Scolopendra viridicornis* (vide titulo), porque é uma das Escolopendras mais frequentes, de maneira que obtivemos grande numero de exemplares vivos e mortos.

Quanto ao sistema muscular dos Anelideos e Insetos aproveitamos o "Lehrbuch der Entomologie" de H. Weber (vide bibliogr.).

BIBLIOGRAFIA

Attems, Graf — Myriapoda et Chilopoda, Kükenthal-Handb. d. Zool. 4:1-402.
Garbowski, Tad — Phyletische Deutung der Lithobiusformen — Zool. Jahrb. 9 1895.
Herbst, C. — Beiträge zur Kenntnis der Chilopoden — Bibl. Zool. 9.1891.
Meinert, F. — Caput *Scolopendrae* — The head of the *Scolop.* and its Muscular System. Koppenhagen, 1883.
Perez, C. — Bull. Sci. France et Belg. 37.1903.
Plateau, F. — Observations sur une grande Scolopendre vivante — Soc. Ent. de Belg. 1887.
Schulze, P. — Zeitschr. f. Morph. u. Oek 1.1924 et Deutsch. ent. Zeitschr. 1915.
Verhoeff, K. — Zur Morphologie der Segmentanhänge bei Insecten und Myriapoden — Zoolog. Anz. 1896.

Verhoeff, K. — Zoologische Ergebnisse einer von ESCHERICH unternommenen Reise nach Kleinasien 1. Arch. f. Naturgesch. 1896.

Verhoeff, K. — Thorax der Insecten mit Berücksichtigung der Chilopoden, Halle, Nova Acta. 1902-1903.

Verhoeff, K. — Gliederfüssler, Arthropoda, Klasse Chilopoda — Br. Klassen u. Ordn. d. Tierr. **5** (2). 1902-1925.

Verhoeff, K. — Mediterrane Chilopoden und Notiz zur Periodomorphose der Juliden — — Zool. Anz. **84** (3/4). 1925.

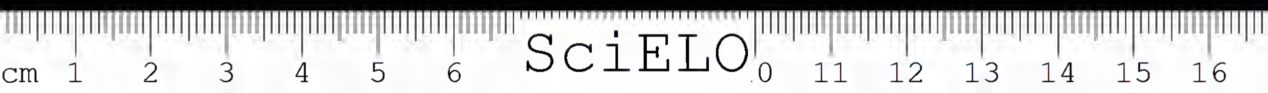
Verhoeff, K. — South African Geophilomorpha. — Ann. of the S. Afr. Mus. **32** (3). 1937.

Verhoeff, K. — Über einige Chilopoden aus Australien und Brasilien — Zool. Jahrb. **70** (1-2).1937.

Verhoeff, K. — Chilopoden-Studien zur Kenntnis der Epimorphen — Zool. Jahrb. **71** (4-6). 1938.

Voss, Fr. — Zeitschr. f. wissensch. Zool. **78**. 1905; **109**. 1912.

Weber, H. — Lehrbuch der Entomologie, Jena, 1933.



APENDICE-*ANHANG*

DIE MUSKULATUR VON *SCOLOPENDRA VIRIDICORNIS* NEWP.

EIN BEITRAG ZUM VERGLEICHENDEN STUDIUM DER CHILOPODEN UND INSECTEN — MUSKULATUR.

In dieser Arbeit wird ein vergleichendes Studium der Chilopodenmuskulatur unternommen, wobei auch das Muskelsystem der Anneliden und Insecten in's Auge gefasst wird.

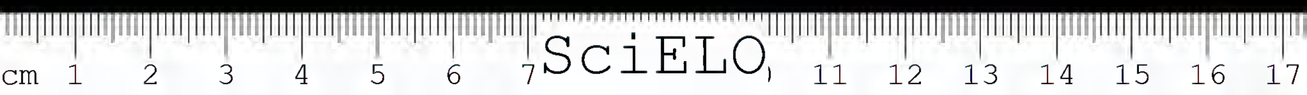
Aus der *Geophilomorphengruppe* haben wir 4 genera mit den Arten: *Aphilodon micronyx* BRÖL., 1901; *Orphnaeus brasiliensis* MEIN., 1870; *Schendyla paulista* BRÖL., 1903 und *Geophilus sublaevis* MEIN., 1870 untersucht; von den *Lithobiomorphen* diente uns eine Serie des subgenus: *Eulithobius* STUXB. zu diesem Studium und von den *Skolopendromorphen* behandelten wir die Arten: *Scolopendra viridicornis* NEWP., 1844; *Scolopendra subspinipes* LEACH, 1815 und *Scolopendra morsitans* L., 1758.

Da *Scolopendra viridicornis* eine sehr häufige Art darstellt, konnten wir sie in grossen Mengen bekommen und im lebendigen und toten Zustande untersuchen. Wir nahmen deshalb auch diese Art als Ausgangsobjekt unserer vergleichenden Untersuchungen.

Jedesmal wenn wir von Anneliden und Insecten sprechen, so beziehen wir uns dabei auf H. WEBER's "Lehrbuch der Entomologie", Jena, 1933 (Siehe auch Bibliographie im Haupttexte).

* * *

Im Kapitel: Vergleichende Morphologie und Phylogenie-Bronn's, 1903-1925, macht VERHOEFF zusammengefasste, vergleichende Betrachtungen über das Muskelsystem der Lithobiomorphen und Geophilomorphen, wobei er nur einige Vertreter in's Auge fasst. Aus der Skolopendromorphengruppe wird *Scolapendra subspinipes* einige Male flüchtig erwähnt. Wir stellten deshalb in dieser Arbeit gerade die Skolopendromorphen, besonders das genus: *Scolopendra* in den Vordergrund, wobei wir die Kopf und Beinmuskulatur ausser Acht liessen, da diese schon von Meinert und Verhoeff (siehe Bibliographie) behandelt wurde.



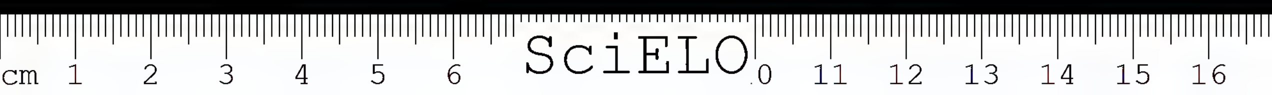
Bei den Skolopendromorphen haben wir es zweifellos mit der abgeleitetsten Gruppe unter den Chilopoden zu tun. Während die Muskelverhältnisse bei den Geophilomorphen noch am einfachsten sind und am leichtesten von der Ring- und Längsmuskulatur der Anneliden abgeleitet werden können, sehen wir bei den Lithobiomorphen schon eine neue Verwicklung und Vervollkommung in der Auflösung der verschiedenen Muskellagen in neue Züge, deren Ursprungs-und Insertionsstellen auch schon teilweise verschoben sind.

Bei den Skolopendromorphen geht diese Verschiebung und Verlagerung noch weiter auseinander. Das Bild der einzelnen Muskellagen wird noch verwickelter, so dass wir nicht anstehen, gerade diese Gruppe als einen Vermittlungstyp der Insectenmuskulatur einerseits und der Annelidenmuskulatur andererseits anzusehen. Zur Bekräftigung dieser unserer Behauptung haben wir in vorliegender Arbeit eine morphologisch-vergleichende Betrachtung der verschiedenen Muskelsysteme der oben genannten Gruppen unternommen und wir glauben damit einige neue Blickpunkte zur phylogenetischen Deutung der besonders verwickelten Thoraxmuskulatur der Insecten eröffnet zu haben.

Unseren Ausführungen im Hauptteile dieser Arbeit möchten wir nur noch Folgendes kurz beifügen:

Die dorsalen Längsbündel von *Scolopendra* werden in 3 Züge geteilt. Zu oberst liegen die schiefen, segmentären Längsmuskeln, die von vorne innen nach aussen hinten streichen und von den darunter liegenden, geraden Längsbündeln zur Seite verschoben werden. Diese sind ebenfalls segmentär, behalten die Mittelzone der Tergite inne und verlaufen vom Vorder-zum Hinterrand. Hierauf folgen die geraden intersegmentären Längsbündel, die durch Tracheolen in Nebenbündel zerklüftet werden und über die Segmentgrenzen hinwegziehen, immer je 2 Hauptsegmente miteinander verbindend. Zu unterst bemerken wir die 2 schiefen intersegmentären Längsbündel, die von vorne innen nach hinten aussen ziehen, wobei immer jedes der beiden einem besonderem Segment entspricht, was daraus ersichtlich ist, dass "$mdli_2$" viel mehr in die Länge gezogen, während "$mdli_1$" kürzer und breiter ist, -und noch besonders daraus, dass sich "$mdli_2$" in den beiden stigmenlosen, sechsten und siebten Segmenten wiederholt.

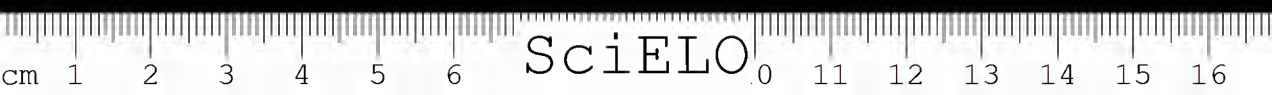
Der "$mvls_1$" ist gerade und verläuft der Mittellinie paralell. Er ist der Prototyp des Längsbündels, das bei den Insecten von Spina zu Spina läuft. "$Mvls_2$" geht bei Letzteren von Furca zur hinteren Spina; "$mvls_3$" von Furca zur vorderen Spina. Da aber bei den Skolopendromorphen weder von einer eigentlichen Spina noch Furca geredet werden kann,sondern diese hier erst in Bildung begriffen sind (sie sind angedeutet durch chitinöse Gebilde am Vorder-und Hinterrande und in der Mittellinie der Sternite) und desonders das primäre Furcagebilde noch sehr verschoben ist, so wird "$mvls_2$" sehr lang und "$mvls_3$" von aussen nach innen verschoben.



Bei den Insecten ist noch ein "mvli" vorhanden, der von Furca zu Furca verläuft. Bei *Scolopendra* geht er jedoch immer noch von primärer Spina zu Spina, obwohl hier schon in so fern eine Annäherung an den Fall der Insecten vorhanden ist, dass die "spinäre" Chitinformation mit den primären "Furcaausbildungen" in engster Verbindung steht. Auf diese Weise ist der Beweis für die Richtigkeit der Behauptung WEBER's — Lehrbuch der Entomologie, pag. 132, — dass der "mvli" auf keinen sterno-subcoxal-Muskel zurückzuführen, sondern dass er vielmehr von einem ventralen Längsmuskel, der von Spina zu Spina verlief, abzuleiten ist, wobei sich die Ursprungs-und Insertionsstellen von den Spinae auf die Furcae verschoben haben müssen, erbracht.

WEBER's Ausführungen möchten wir nur noch beifügen, dass mit der Verschiebung dieses Muskels von der Spina zur Furca auch die Umwandlung und definitive Ausgestaltung der Furca Hand in Hand ging, was wir dadurch beweisen zu können glauben, dass bei den Skolopendromorphen noch keine eigentlichen Spinae noch Furcae ausgebildet sind, sondern diese nur durch flache Chitinleisten ausgedrückt werden, wobei besonders die der Furca entsprechende Chitinleiste sehr mächtig ist. Sie beginnt mit einem schmalen Anfangsteil in der Mitte je eines Sternites, verläuf sodann über den Sternitrand hinweg und vereinigt sich mit den chitinösen Apophysen der Costa coxalis und dem,dieser gegenüber liegenden inneren Coxo-Trochantingelenke. Durch Längs- und Quermuskeln wird diese primitive, innere Furca in ihrer Lage erhalten und sie ist es auch, die den direkten Pro-und Remotoren der Coxa als Insertionsstelle dient. Nun sind gerade bei den Skolopendren die "mvli" mit dieser Platte sehr lose verbunden (durch Nebensehnen und einer schwachen, vorderen Apophyse), so dass, auf Grund einer steigenden Inanspruchnahme und der fortschreitenden Verschmelzung der Subcoxalteile mit dem Sternum der Insecten, die Möglichkeit einer definitiven Niederlassung des "mvli" auf den Furcae durchaus im Bereiche der Möglichkeit liegt.

(Trabalho da Secção de Zoologia Medica do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

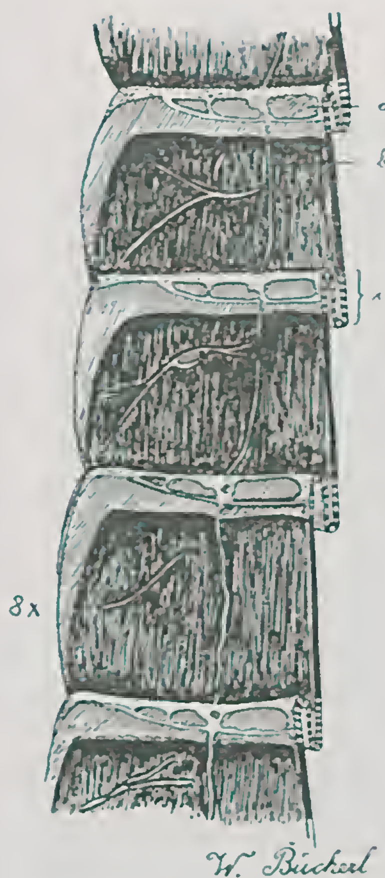


Fig. 1

Aspecto interno dos tergitos em estado natural.

a) escleritos, b) sulco episcutal, c) zona movel.

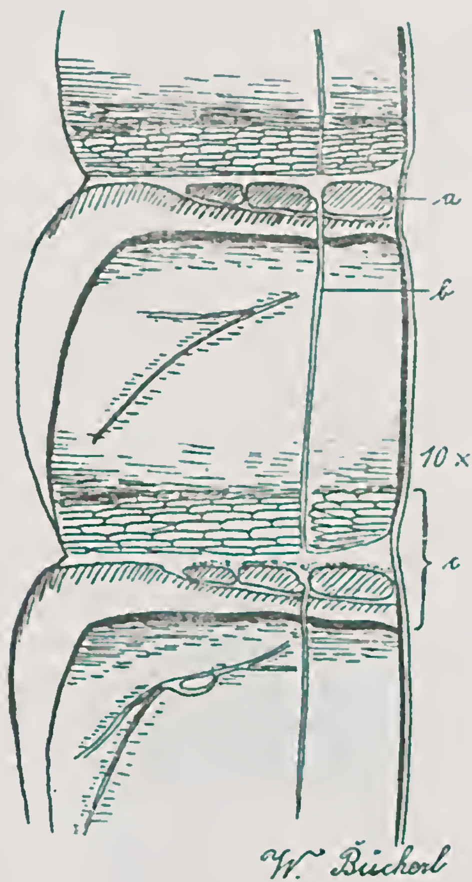
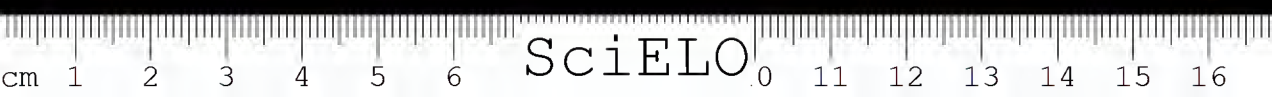


Fig 2

Aspecto interno dos tergitos distendidos.

a) escleritos, b) sulco episcutal, c) zona movel distendida.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

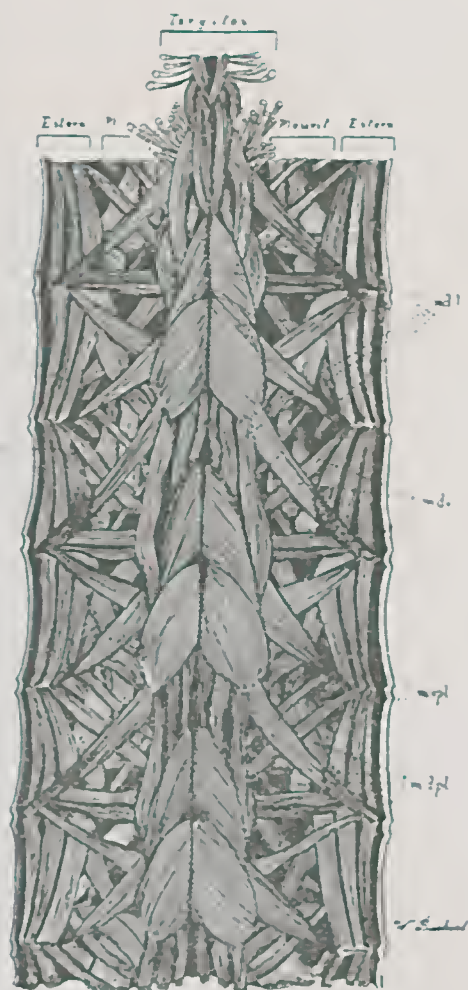


Fig. 3

Reproducção esquematica da musculatura da *Scolopendra viridicornis* NEWP.

mdl: musculos dorso-longitudinais;
mdv: musculos dorso-ventrais;
mvl: musculos ventro-longitudinais;
mdpl: musculos dorso-pleurais;
mvpl: musculos ventro-pleurais.

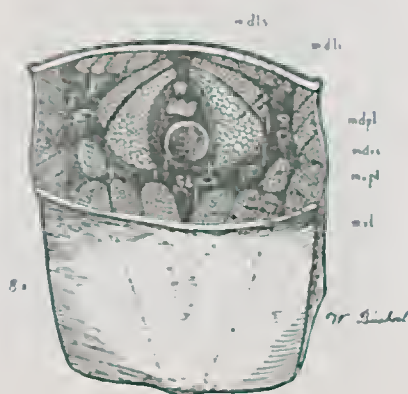
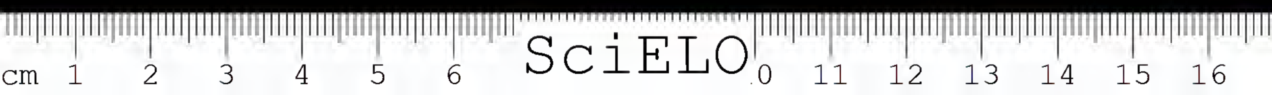


Fig. 4

Aspecto interno de um segmento da *Scolopendra viridicornis* NEWP.

mdls: musculos dorso-longitudinais segmentares;
mdli: musculos dorso-longitudinais intersegmentares;
mvl: musculos ventro-longitudinais;
mdpl: musculos dorso-pleurais;
mvpl: musculos ventro-pleurais;
mdvi: musculos dorso-ventrais intersegmentares.


SciELO

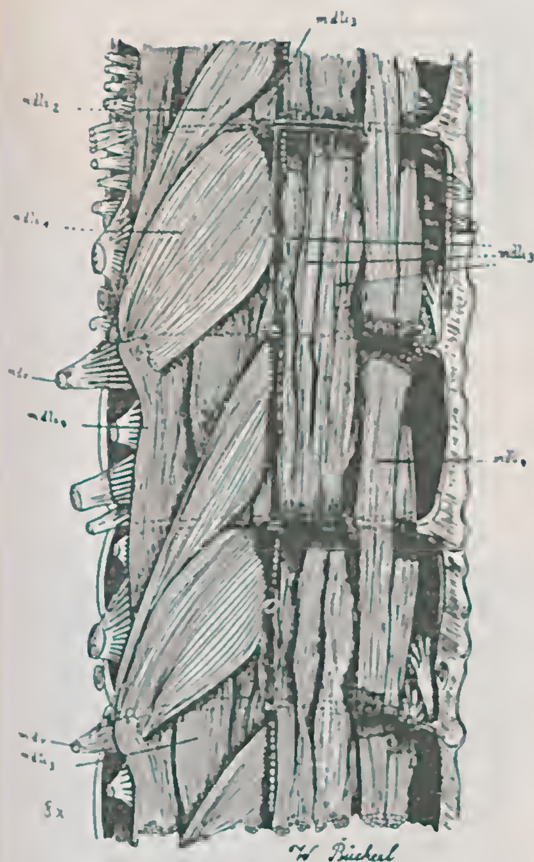


Fig. 5

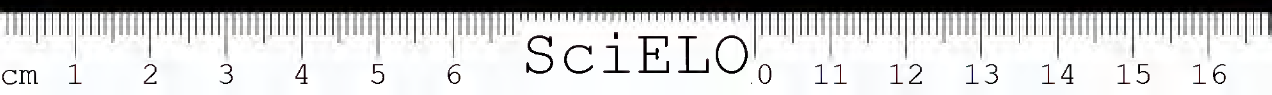
Aspecto interno dos musculos dorso-longitudinais intersegmentares.

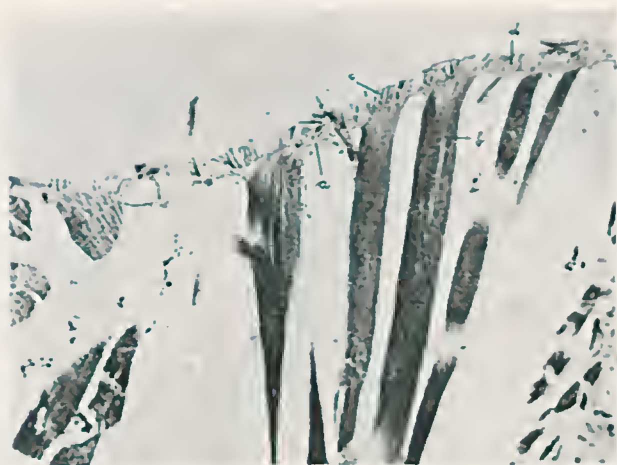


Fig. 6

Aspecto interno dos musculos dorso-longitudinais segmentares.

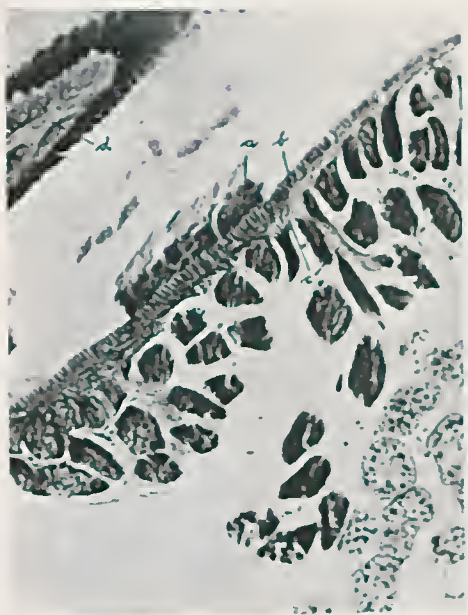
1.° origem do mdli$_1$; 2.° origem do mdli$_2$.





Microfoto 1

a) membrana basilar
b) musculo
c) tonofibrilas
d) epiderme subcuticular



Microfoto 2

a) endocuticula
b) tonofibrilas
c) tendões
d) exocuticula com poros cutaneos.



Microfoto 3

a) musculos horizontais
b) tendão
c) nucleo epidermico
d) traqueias
e) esofago

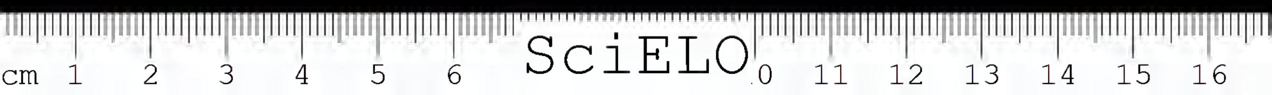

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



Foto 4

Aspecto interno de tres segmentos dorsais da *Scolopendra viridicornis* NEWP.

a: traqueias e traqueolas;
b: $mdli_1$;
c: $mdli_2$;
d: feixe mediano do $mdli_3$;
e: feixe lateral do $mdli_3$;
f: $mdli_4$;
g: mdv.

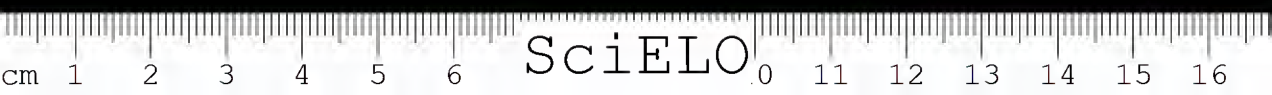
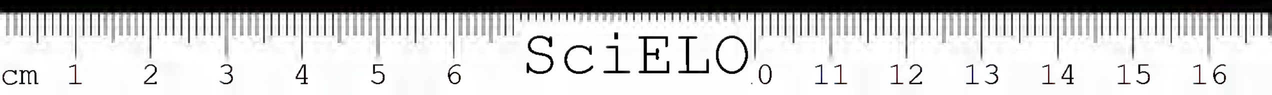

SciELO



Foto 5

Aspecto interno de tres segmentos ventrais e ventro-pleurais da *Scolopendra viridicornis* NEWP.
a: tendão longitudinal mediano do $mvls_2$; b: tendão do $mdvs_1$; 1: $mdli_1$; 2: $mdli_2$; 3: $mdvs_3$; 4: $mvls_1$; 5: $mvls_2$; 6: $mdvs_1$; 7: $mdvs_2$; 8: $mdvs_4$; 9: mdvi.
Na linha mediana dos esternitos observamos os feixes subcoxales — sternales.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

612.617:612.816

EXCITAÇÃO DO HIPOGASTRICO E AÇÃO DA ADRENALINA E DA PITOCINA SOBRE A MUSCULATURA LISA GENITAL MASCULINA DE GATOS E COBAIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES HORMONAIS

POR

THALES MARTINS & JOSÉ R. VALLE

Já estudamos em trabalhos anteriores (1-6) a influencia dos hormonios sexuais sobre o comportamento "in vitro" dos orgãos genitais accessorios masculinos do gato e do cobaio. No gato, as substancias androgenicas inibem a motilidade espontanea e diminuem a reatividade farmacologica daqueles orgãos. As substancias estrogenicas exercem efeitos opostos e ainda sensibilizam os orgãos à ação da pitocina e modificam de contração para relaxamento o efeito da adrenalina.

No cobaio a ação inibidora da testosterona não é tão evidente como no gato, mas o estradiol parece exagerar a grande excitabilidade dos orgãos de doadores normais. A variação dos efeitos da adrenalina analoga à observada no utero da gata por Cushny (7), Dale (8), van Dyke e Gustavson (9) e no utero da cobaia por Okamoto (10), foi encontrada tambem nos deferentes e nas vesiculas de cobaios tratados com o benzoato de estradiol.

Diante dos dados acima resumidos e empregando grupos de animais normais, castrados e castrados tratados com hormonios sexuais, procuramos estudar neste trabalho os resultados da excitação faradica dos nervos hipogastricos e os efeitos da injeção endovenosa de adrenalina e de pitocina sobre os canais deferentes de gatos e sobre os deferentes e as vesiculas de cobaios, mantidos os orgãos "in situ".

1

MATERIAL E METODO

Empregamos nas nossas experiencias 25 gatos de 2.3 a 3.8 kgs., assim distribuidos: 2 normais, 4 castrados, 8 castrados tratados com testosterona e 11 castrados tratados com estradiol e 19 cobaios de 420 a 900 gs.: 5 normais, 3 castrados, 3 castrados injetados com testosterona e 8 castrados tratados com estradiol. O tratamento hormonal consistiu em injeções subcutaneas, cada 4 a 6 dias, da substancia hormonal (*), dissolvida em 0.5 a 1.0 cc. de oleo de sesamo.



Fig. 1

Gato 43, castrado 36 dias antes, tratado com 70 mgs. de propionato de testosterona repartidos em 7 injeções oleosas subcutaneas. De cima para baixo: movimentos do penis, movimentos do canal deferente, linha do sinal e linha do tempo.

A — Excitação dos nervos hipogastricos durante 5 e 15 segundos com corrente de 4 volts no primario e secundario afastado de 13 cms..

B — Efeitos da injeção na femural de 5 γ de adrenalina.

Observar o tipo de resposta monofasica do deferente depois da excitação eletrica e ritmica após a adrenalina. O abaixamento da alavanca ligada ao penis durante a excitação eletrica corresponde à ereção do orgão.

Em todas as figuras, na linha do sinal, vem registada a duração da exeitação faradica e da injeção endovenosa. Cada intervalo na linha de tempo corresponde a 6 segundos.

Abb. 1

Katze 43, 36, Tage nach der Kastration mit 70 mg Testosteronproprionat auf 7 mal verteilt injiziert. *Oben*: Penis. *Mitte*: Samenleiter. *Unten*: — und Zeitlinie.

A — Reizung der hypogastriei Nn. während 5 nnd 15 Sekunden Dauer (4 Volt, Abstand der Primär- und Sekundär-Spule 13 cm).

B — Wirkung des Adrenalins (5 γ intravenös injiziert). Zu vergleichen ist die Art der Kontraktionen naeh der Injektion und naeh der faradischen Reizung der Nerven. Die Senkung des mit dem Gliede verbnndenen Schreibstiftes während der elektrischen Reizung entsprieht der Erektion des Organs.

Bei allen Abb. ist auf der Signallinie die Dauer der Reizung nnd der Injektion verzeiehnet. Zeitlinie: Intervalle von 6 Sek..

(*) Agradecemos às casas Schering (Testoviron, Progynon) e Parke Davis (Adrenalina, Pitocina) os preparados hormonais usados nestas experiencias.

As doses utilizadas variaram de 30 a 160 mgs. de propionato de testosterona e de 2 a 22 mgs. de benzoato de estradiol. De 23 a 180 dias depois da castração e de 3 a 96 horas depois da ultima dose hormonal, quando o tratamento era instituido, anestesiava-se o animal para a dissecção dos orgãos e isolamento dos nervos hipogastricos. Para os gatos empregamos o Dial "Ciba" em injeção intraperitoneal de 0.7 a 0.8cc. por kg. e para os cobaios a uretana, tambem intraperitonealmente, na dose de 1 g. por kg.. Em ambas as especies, quando necessario, a anestesia era completada com éter. Isolados os orgãos êles eram ligados às alavancas inscritoras com index de ampliação de 1 x 6 e carga de 1 a 2 gs.. Um tubo protetor de vidro, com orificio de passagem do fio, servia de camara humida. Nos gatos, as injeções eram feitas na femural e nos cobaios na jugular na dose de 1 a 2 unidades internacionais de pitocina e de 2 a 20 gamas de adrenalina e, em ambas as especies, a excitação dos hipogastricos era feita com a corrente de uma bobina tipo "Harvard" com 4 a 8 volts no primario, 60 interrupções por minuto e de 5 a 60 segundos de duração. Tambem os orgãos contralaterais eram isolados e levados para um banho oxigenado de Locke a 38° para experiencia concomitante "in vitro".



Fig. 2

Canal deferente do Gato 52, castrado 83 dias antes e tratado durante 12 dias com 2.5 mgs. de benzoato de estradiol "per os". Experiencia realizada 6 horas após a ultima ingestão do hormonio.

Efeitos da excitação hipogastrica durante 90 segundos (4 volts, 13 cms.) e da injeção endovenosa de 15 γ de adrenalina. Notar a fraca excitabilidade nervosa e a ação inibidora da adrenalina.

Abb. 2

Samenleiter der Katze 52, 83 Tage nach der Kastration mit 2.5 mg Oestradiolbenzoat, *per os* während 12 Tagen, behandelt; 6 Stunden nach der letzten Dosis beobachtet.

Effekt der Reizung der hypogastrici Nn. (4 Volt, 13 cm 90 Sek.) und der Injektion von 15 γ Adrenalin. Schwache Nervenreizbarkeit und hemmende Wirkung des Adrenalins.

RESULTADOS

Os resultados vêm resumidos no quadro No. 1. As contrações espontaneas, isto é, independentes de injeções de drogas ou de excitação hipogastrica, foram registadas mórmente no grupo de cobaios castrados tratados com estra-

diol. Tambem neste grupo foi maior a excitabilidade hipogastrica; contrações fortes eram registadas já com o maximo afastamento do secundario da bobina.

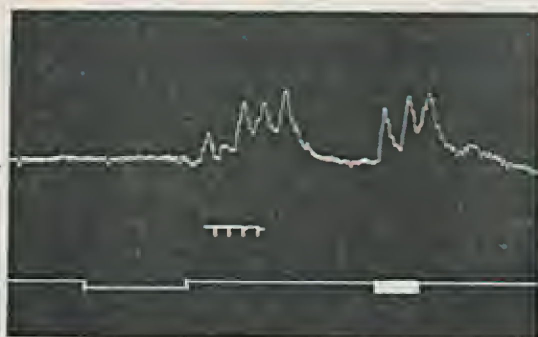


Fig. 3

Canal deferente do Gato 55, castrado de 61 dias tratado durante este periodo com 50 mgs. de propionato de testosterona e a seguir com 5 mgs. de benzoato de estradiol. Na linha do sinal vêm registadas a injeção na femural de 1.5 u. int. de Pitocina e a excitação hipogastrica durante 15 segundos (4 volts, 9 cms.).

O tratamento pelo estradiol sensibilizou o orgão à ação da pitocina, mas a excitabilidade nervosa é fraca. As pequenas oscilações são devidas aos movimentos respiratorios.

Abb. 3

Samenleiter der Katze 55, 61 Tage nach der Kastration mit 50 mg Testosteronpropionat und danach mit 5 mg Oestradiolbenzoat behandelt. Effekt der intravenösen Injektion von Pitocin (1.5 I. E.) und der elektrischen Reizung des Hypogastricus (4 Volt, 9 cm 15 Sek.).

Die Oestradiol-Behandlung sensibilisiert das Organ gegen die Wirkung des Pitocins, aber die Nervenreizbarkeit ist schwach.

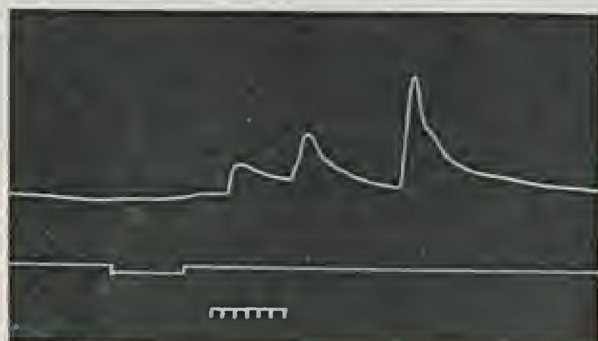


Fig. 4

Canal deferente do Gato 33, 130 dias depois da castração. Efeitos da injeção endovenosa de 1 u.i. de pitocina.

Abb. 4

Samenleiter der Katze 33, 130 Tage nach der Kastration. Wirkung der intravenösen Injektion von Pitocin (1 I. E.).

Nos gatos, pudemos verificar que a excitabilidade hipogastrica é maior nos animais castrados do que nos grupos de castrados injetados com tetosterona ou estradiol. Em dois casos, um gato normal e um castrado injetado com testoterona, o comportamento "in situ" de castrado, deduzido da maior excitabilidade nervosa, concordou com a experiencia "in vitro". Tanto nos gatos como nos cobaios tratados com estradiol somente em um caso, para cada especie, foi assinalado relaxamento dos orgãos depois da excitação farádica dos nervos hipogastricos. Quanto à ação da adrenalina, predominaram os efeitos inibidores no grupo de gatos e cobaios injetados com benzoato de estradiol; nos gatos, entretanto, an-

QUADRO No. 1

Animais de experiencia	No. de animais	Casos de automatismo	EXCITABILIDADE HIPOGASTRICA				ADRENALINA				PITOCINA		
			Forte	Media	Fraca	Relaxamento	No. de testes	Contração	Sem efeito	Inibição	No. de testes	Contração	Sem efeito
Gatos normais	2	0		1	1		2	2			1	1	
" castrados	4	1		4			4	3		1	3	3	
" castrados + testosterona..	8	2		1	7		7	5		2	6	1	5
" castrados + estradiol	11	2		3	7	1	10	1	4	5	8	6	2
Cobaios normais	5	0	2	3			4	1	3				
" castrados	3	0		1	2		3	2		1	3		3
" castrados + testosterona	3	1	1		1		3	2	1		3	1	2
" castrados + estradiol...	8	6	5		2	1	7		2	5	4	3	1

tes do relaxamento houve sempre pequena contração inicial. As variações na resposta à excitação hipogastrica e à injeção de adrenalina foram discutidas por Kennard (11) a proposito do comportamento "in situ" de uteros de gatas tratadas com progesterona. Embora tivessemos examinado os nossos animais de 3 a 96 horas depois da ultima dose de estradiol, os efeitos inibidores depois da injeção de andrenalina foram, como dissemos, mais frequentes do que após a excitação faradica dos nervos hipogastricos. Entretanto, sómente o exame de um numero maior de casos e, talvez, a analise da influencia do rítmo de tratamento e da via de administração do hormonio, permitirão concluir pela excepcional inibição à excitação nervosa da musculatura lisa genital de gatos e cobaios tratados com substancias estrogenicas.

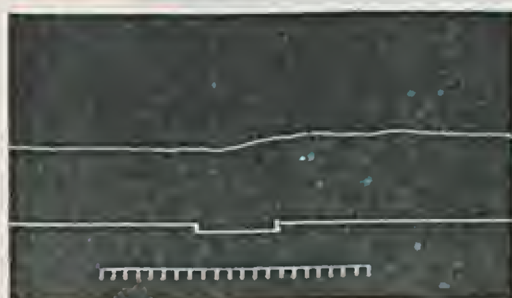


Fig. 5

Canal deferente do cobaio 126A, normal. Efeitos da injeção na jugular de 25 γ de adrenalina.

Abb. 5

Samenleiter des normalen Meerschweinchens 126A. Wirkung von 25 γ Adrenalin, in die Jugularvene injiziert.

Finalmente, a maior incidencia de efeitos positivos da pitocina, nas duas especies, foi encontrada no grupo de castrados-estradiol.

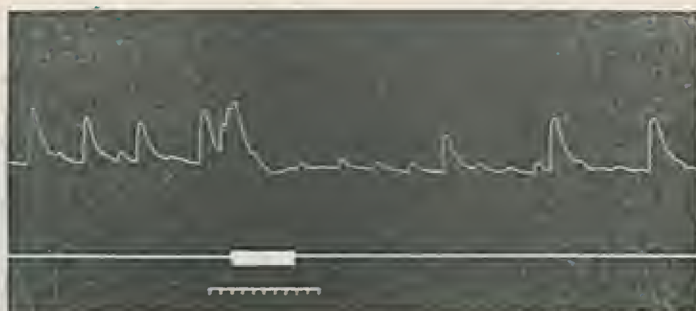


Fig. 6

Canal deferente do cobaio 7 castrado de 145 dias e tratado com 21.5 mgs. de benzoato de estradiol repartidos em 29 injeções oleosas subcutaneas. Efeitos da excitação hipogastrica, 4 volts, 13 cms. durante 30 segundos. Notar a leve queda do tonus e a diminuição da amplitude das contrações espontaneas.

Abb. 6

Samenleiter des Meerschweinchens 7, 145 Tage nach der Kastration und mit 21.5 mg Oestradiolbenzoat, auf 29 mal verteilt, injiziert. Reizung der hypogastrici Nerven während 30 Sek. (4 Volt, 13 cm). Schwaches Fallen des Tonus und Verkleinerung der Spontanbewegungen.

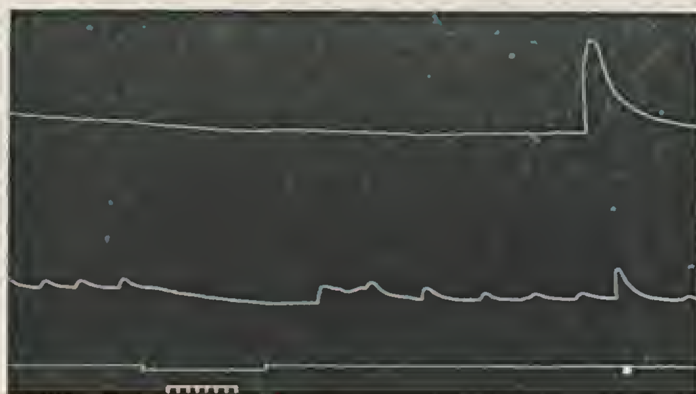


Fig. 7

Cobaio 144, castrado de 70 dias tratado com 1.5 mgs. de propionato de testosterona e a seguir com 6 mgs. de benzoato de estradiol.

Em cima: Vesicula seminal. *Em baixo:* Canal deferente. Efeitos da injeção endovenosa de 2.5 γ de adrenalina e da excitação faradica dos nervos hipogastricos. (4 volts, 13 cms. 50°, 5 segundos).

Notar que o tratamento pelo estradiol só inverteu a ação da adrenalina.

Abb. 7

Meerschweinchen 144, 70 Tage nach der Kastration mit 15 mg Testosteronpropionat und danach mit 6 mg Oestradiolbenzoat injiziert.

Oben: Samenblase. *Unten:* Samenleiter.

Effekt der intravenösen Einspritzung von Adrenalin (2.5 γ) und der faradischen Reizung der hypogastrici Nn. (4 Volt, 13 cm 50°, 5 Sek.).

Bemerkbar ist, dass die Oestradiolbehandlung nur die Wirkung des Adrenalins wechselt.

RESUMO

Nos deferentes de gatos, a variação nos efeitos da adrenalina na dependencia do tratamento hormonal, assim como a sensibilização dos orgãos de castrados injetados com estradiol à ação da pitocina, previamente descritas nas experiencias "in vitro", foram tambem registadas nas experiencias realizadas, mantidos os orgãos "in situ". Nesta especie a reatividade à excitação do nervo hipogastrico foi encontrada maior nos castrados do que nos normais ou injetados com testosterona ou estradiol. Nos deferentes e vesiculas seminais de co-

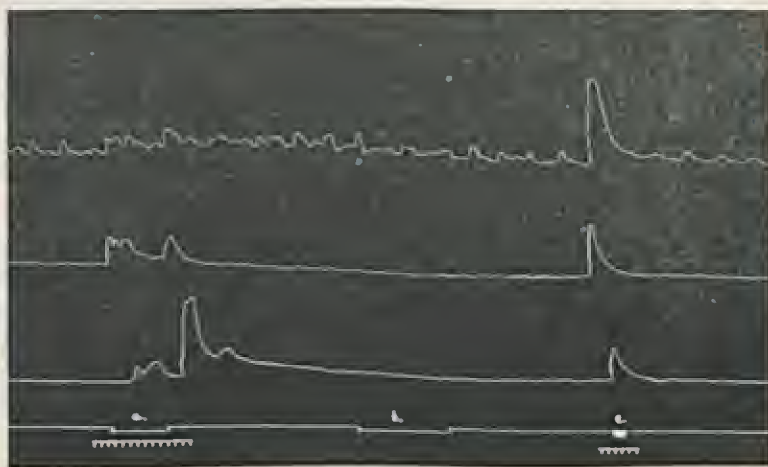


Fig. 8

Cobaio 123 castrado de 120 dias e tratado com 11 mgs. de benzoato de estradiol. *Em cima*: Bexiga. *No meio*: Vesicula seminal. *Em baixo*: Canal deferente.

Efeitos da injeção endovenosa na jugular: a) 1 u.i. de pitocina, b) 10 γ de adrenalina. c) Excitação faradica do hipogastrico durante 10 segundos (4 Volts, 13 cms. 45°).

Neste caso o tratamento pelo estradiol sensibilizou os orgãos à ação da pitocina. Ação praticamente nula depois da injeção de adrenalina.

Abb. 8

Meerschweinchen 123, 120 Tage nach der Kastration mit 11 mg Oestradiolbenzoat behandelt. *Oben*: Harnblase. *Mitte*: Samenblase. *Unten*: Samenleiter.

Effekt der Injektion in die Jugularvene von a) Pitocin (1 I. E.), b) Adrenalin (10 γ). c) Faradische Reizung des N. hypogastricus während 10 Sek. (4 Volt, 13 cm 45°). Bei diesem Fall sensibilisiert die Oestradiol-Behandlung die Organe gegen die Wirkung des Pitocins. Nach der Adrenalin-Injektion keinerlei auffällige Wirkung.

baios, a maior excitabilidade hipogastrica foi encontrada no grupo de castrados-estradiol. Neste grupo tambem foi observada a inversão dos efeitos da adrenalina e registada eventual sensibilização à pitocina. Nas duas especies,

ainda no grupo de castrados-estradiol, efeitos inibidores foram mais facilmente obtidos com a injeção de adrenalina do que com a excitação faradica dos nervos hipogastricos.

REIZUNG DER HYPOGASTRICI NERVEN UND WIRKUNG DES ADRENALINS UND PITOCINS AUF DIE GLATTE GENITALMUSKULATUR VON KATZEN UND MEERSCHWEINCHEN IN VERSCHIEDENEN HORMONALEN ZUSTÄNDEN

Durch frühere Arbeiten dieses Laboratoriums (1-6) haben wir die hemmende Wirkung des Testosterons auf die Kontraktilität "in vitro", sowie die Erregung der Samenleiter von Katzen durch Oestradiol-Behandlung bewiesen. Bei den Meerschweinchen scheint der Einfluss der Sexualhormone nicht so deutlich hervorzutreten; aber durch Adrenalin kann man, wie bei Katzen, in Organen Testosteron-kastrierter Tiere Kontraktion und in Oestradiol-kastrierter Erschlaffung hervorrufen. Ein anderer bemerkenswerter Punkt unserer Untersuchungen war, dass das Oestradiol das Vas deferens des Katers für die Wirkung des Pitocins sensibilisiert. Nach diesen Angaben untersuchten wir das Verhalten "in situ" der Genitalorgane dieser xwei Tierarten nach elektrischer Reizung der hopogastrici Nerven, mit Anwendung eines Harvard-Induktoriums von 4-8 Volt und 5-60 Sekunden Dauer, und intravenösen Injektionen von Andrenalin (5 bis 20 gama) und Pitocin (1 bis 2 I.E.).

Als Versuchstiere dienten: 25 Katzen — 2 normale, 4 kastrierte, 8 kastrierte mit Testosteron behandelte und 11 kastrierte mit Oestradiol eingespritzte; 19 Meerschweinchen — 5 normale, 3 kastrierte, 3 kastrierte mit Testosteron und 8 kastrierte mit Oestradiol behandelte. 23 bis 180 Tage nach der Kastration und 3 bis 96 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere narkotisiert und die Längskontraktionen der durch Glasröhren geschützten Genitalorgane mit Hilfe eines Schreibstiftes gemessen.

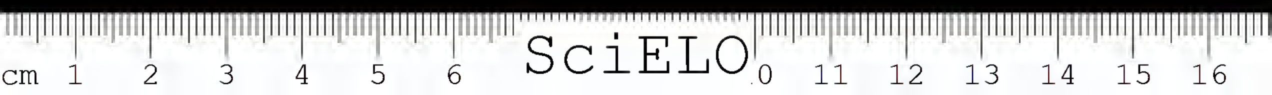
Die wechselnde Wirkung des Adrenalins auf die Samenleiter von Katern, sowie die erhöhte Empfindlichkeit gegen das Pitocin nach der Oestradiol-Behandlung, äusserten sich auch bei den Versuchen "in situ". Die elektrische Reizung der hypogastrici Nerven ruft Kontraktionen in fast allen Fällen hervor; die Organe kastrierter Tiere sind die empfindlichsten; in Oestradiol-Kastraten beobachteten wir nur in einem Fall deutliche Hemmung. Bei den Meerschweinchen zeigten die Oestradiol-Kastraten die stärkste Reizbarkeit. Bei dieser Gruppe beobachteten wir auch die wechselnde Wirkung des Adrenalins und eine eventuelle Sensibilisierung für das Pitocin.

Bei den Oestradiol-kastrierten Tieren beider Arten erzielten wir eine Hemmung leichter durch Adrenalin-Injektion, als durch faradische Reizung der hypogastrici Nerven.

BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Influence des hormones sexuelles sur la contractilité du canal déférent du chat "in vitro". Inversion des effets de l'adrénaline, sensibilisation à la pituitrine — C. R. Soc. Biol. **130**:189.1939.
2. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter normaler, kastrierter und mit Sexualhormonen behandelter Katzen — Pflügers. Arch. f. d. ges. Physiol. **243**(3):243-258.1940.
3. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Contractilité et pharmacologie "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales des cobayes normaux et castrés — C. R. Soc. Biol. **131**:302.1939.
4. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Influence des hormones sexuelles sur le comportement "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales du cobaye — C. R. Soc. Biol. **131**:306.1939.
5. *Valle, José R.* — Farmacologia do canal deferente e da vesicula seminal do cobaio (Papel dos hormonios sexuais). — Tese de concurso. S. Paulo, 1939.
6. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Estudo morfologico e funcional de enxertos de orgãos genitais accessorios de ratos e cobaios em diferentes condições hormonais — Rev. Biol e Hygiene de S. Paulo **10**(2):156-163.1940.
7. *Cushny, A.* — On the movements of the uterus — Jour. Physiol. **35**:1.1906.
8. *Dale, H. H.* — On some physiological actions of ergot — Jour. Physiol. **34**:163.1906.
9. *Van Dyke, H. B. & Gustavson, R. G.* — On the pregnancy response of the uterus of the cat — Jour. Pharm. a. Exp. Therap. **37**:379.1929.
10. *Okamoto, in Gruber, C. M.* — The autonomic innervation of the genito-urinary system — Physiol. Reviews **13**:497.1933.
11. *Kennard, J. H.* — The reversal by progestin of the responses of the non pregnant uterus of the cat — Amer. J. of Physiol. **118**:190.1937.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

612.617

ESTUDO "IN VITRO" DA MUSCULATURA LISA GENITAL MASCULINA DE RATOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES HORMONAIS

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Prosseguindo em nosso estudo sobre o papel dos hormonios sexuais na regulação da contratilidade e da excitabilidade farmacologica da musculatura lisa genital masculina (1-10) tivemos a ocasião de examinar, em nova serie de experiencias, os efeitos de varias drogas sobre os canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos normais, castrados e castrados tratados com hormonios sexuais. Estudamos nos nossos trabalhos anteriores os efeitos da adrenalina, acetilcolina, pilocarpina, eserina, nicotina, ergotamina, yoimbina, cloreto de bario, pituitrina, atropina, espermina, morfina, papaverina, efedrina, hidrastina, muscarina, histamina e prostigmina. Os efeitos foram predominantemente tonicos nos orgãos provenientes de doadores normais ou de castrados tratados com substancias androgenicas, e ritmicos nos orgãos de doadores castrados ou tratados com substancias estrogenicas. Algumas drogas como a pilocarpina e a muscarina, somente excitavam os orgãos provenientes de ratos castrados ou de injetados com a estrina. Concluimos dos nossos estudos que a contratilidade e a excitabilidade farmacologica dos orgãos genitais accessorios masculinos são reguladas pelos hormonios sexuais: as substancias androgenicas exercendo ação inibidora e as estrogenicas, excitadora.

Neste trabalho estudamos os efeitos de novas drogas: cocaina, esparteina, veratrina, lobelina, bulbocapnina, pitressina e pitocina e tambem a ação "in vitro" dos hormonios sexuais: testosterona, estradiol e progesterona.

MATERIAL E METODO

Os resultados descritos neste trabalho se baseam no emprego de 22 deferentes, 21 vesiculas e 10 prostatas de ratos normais; 33 deferentes, 37 vesiculas

e 14 prostatas de castrados; 28 deferentes, 32 vesiculas e 21 prostatas de ratos castrados tratados com propionato de testosterona e 23 deferentes, 27 vesiculas e 18 prostatas de castrados tratados com benzoato de estradiol.

Os orgãos eram retirados de 2 a 90 dias depois da castração e o tratamento hormonal consistia em injeções subcutaneas oleosas cada 4 ou 5 dias de 5 mgs. de propionato de testosterona ou de 1 a 2 mgs. de benzoato de estradiol (*).

Os orgãos provenientes de animais em condições hormonais diversas eram levados para um frasco contendo 40 a 60 ccs. de Locke oxigenado e de pH 7.4 a 7.8. O frasco ficava mergulhado num termostato com regulação automatica da temperatura a 38° ± 0.5°. As contrações longitudinais eram registadas com indice de ampliação de 1 x 6 e carga de 0.5 a 1 g.

Depois de 30 a 40 minutos para as observações concernentes às contrações espontaneas, as drogas, nas concentrações finais adiante referidas, eram adicionadas ao banho, graças a uma tubulura lateral, indo até ao fundo do frasco e facilitando assim a mistura rapida com o liquido nutridor.

RESULTADOS

Cloridrato de cocaina (1:25.000 — 1:50.000). E' um bom excitante dos canais deferentes, provocando contrações com as diferenças já assinaladas para as drogas referidas nos outros trabalhos: contrações ritmicas nos orgãos provenientes de animais castrados ou de castrados tratados com estradiol e predominante tonicas nos de normais ou de castrados injetados com testosterona. As vesiculas e prostatas de normais ou de castrados-testosterona são muito sensiveis à droga, que, na maioria das vezes, não provoca nenhum efeito. As vesiculas e as prostatas de castrados e de castrados-estradiol apresentam contrações predominantemente ritmicas. Em deferentes, vesiculas e prostatas de todos os grupos experimentais a adição de adrenalina após cocaina provoca efeitos sobre a amplitude e o tonus das contrações maiores do que quando a droga era aplicada isoladamente (Fig. 1).

Sulfato de esparteina (1:15.000 — 1:50.000). Estimulo das contrações ritmicas nos orgãos de castrados ou de tratados pelo estradiol. Os orgãos de normais ou de tratados pelo propionato de testosterona são pouco sensiveis a esta droga; só reagem às concentrações mais fortes com pequenas contrações tonicas. (Fig. 2).

Veratrina (1:8.000 — 1:25.000). Resultados inconstantes. Nos deferentes, vesiculas seminais e prostatas de castrados ou de tratados pelo estradiol, às

(*) Agradecemos às casas Schering os hormonios sexuais — Testoviron e Progynon, e Parke Davis — Pitocina e Pitressina, gentilmente cedidos para as nossas experiencias.

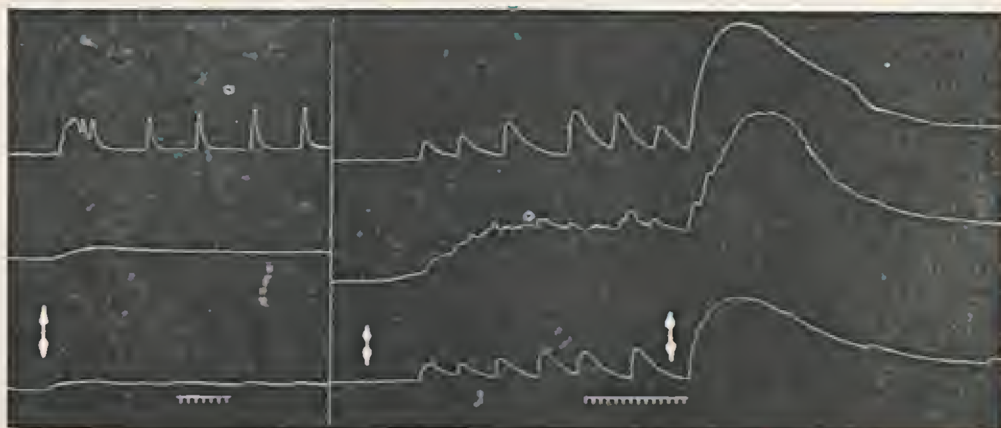


Fig. 1

Canais deferentes de ratos, 5 dias depois da castração.
Em cima: Rato 235, tratado com benzoato de estradiol.
No meio: Rato 234, tratado com propionato de testosterona.
Em baixo: Deferente contralateral do Rato 235.
A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de adrenalina (1:1 milhão), a segunda de cloridrato de cocaina (1:25 mil) e a terceira repetição da mesma dose de adrenalina. Observar as diferenças de tipo de contração e o sinergismo entre a cocaina e a adrenalina.

Fig. 1

Canaux déférents de rat, 5 jours après la castration. En haut et en bas rat 235, traité par le benzoate d'oestradiol; au centre, rat 234, traité par la testosterone. Addition successive d'adrenaline (1:1 million); de cocaine (1:25.000) et d'adrenaline (1:1 million).
Remarquer les différences de type de contraction et l'effet sensibilisant de la cocaine en augmentant l'action de l'adrénaline.

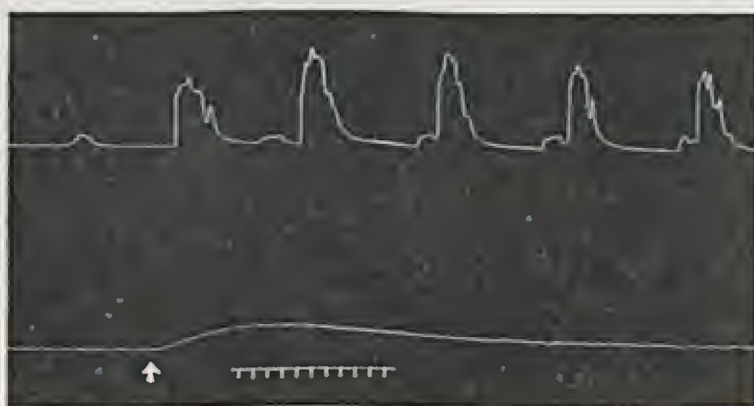


Fig. 2

Em cima: Rato 202, 90 dias depois da castração.
Em baixo: Rato 237, normal.
A flecha assinala a adição ao banho de sulfato de esparteina a 1:13 mil. Resposta ritmica do castrado e tonica do normal.

Fig. 2

Déférents de rat. En haut, rat 202, 90 jours après la castration. En bas, rat 237 normal. Addition au bain du sulfate de spartéine (1:13.000).

vezes, efeitos ritmicos. Nos orgãos de normais ou de tratados com testosterona, apenas alguns deferentes manifestaram leve efeito tonico (Fig. 3).



Fig. 3

Vesiculas seminais de ratos castrados de 5 dias. No alto e em baixo rato 235 tratado com estradiol. No meio, rato 234 tratado com testosterona. A flecha assinala a adição ao banho de veratrina e 1:10 mil.

Fig. 3

Vésicules de rats, 5 jours après la castration. En haut et en bas, rat 235 traité par l'œstradiol; au centre, rat 234 traité par la testostérone. Action de la veratrine (1:10.000).

Lobelina (1:25.000 — 1:50.000). Sobre os deferentes de castrados ou de tratados pelo estradiol, a lobelina é um bom excitante do ritmo, decrescendo o efeito após alguns minutos; em normais ou tratados pela testosterona efeito nulo ou fracamente tonico. Sobre as vesiculas e prostatas a ação é nula ou, às vezes, inibidora, quando os orgãos já apresentam contrações. Em vista deste resultado procuramos verificar a ação da lobelina sobre as contrações provocadas por outras drogas; efedrina, acetilcolina, cloreto de bario, pilocarpina. Em parte das experiencias houve inibição, suspendendo-se as contrações ou diminuindo a amplitude e a frequencia. Este efeito é mais nitido nas vesiculas (Fig. 4).

Cloridrato de bulbocapnina (1:25.000 — 1:50.000). Efeitos inconstantes sobre deferentes de normais e de castrados-testosterona e excitação ritmica dos mesmos orgãos de castrados e de castrados-estradiol. Os efeitos sobre as vesiculas e prostatas foram em geral nulos ou então inibidores quando os orgãos apresentavam contrações. Depois de drogas excitantes como o bario, a efedrina e a cocaina, tanto para os deferentes como para as vesiculas e prostatas, predominou o efeito inibidor. A adição previa ao banho de bulbocapnina anula ou inverte a

ação da adrenalina, efeito comparavel ao da ergotamina e yoimbina e já referido por Molitor (11) noutra ordem de pesquisas (Fig. 5).

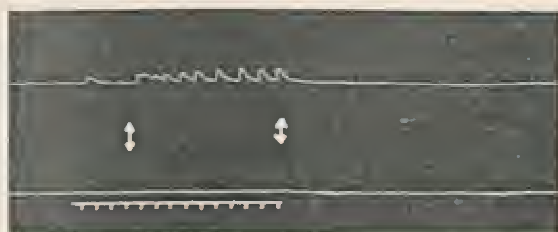


Fig. 4

Glandulas coaguladoras (Prostatas) de ratos.
Em cima: Rato 176, castrado de 28 dias.
Em baixo: Rato 188, normal.
A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:80 mil e a segunda a adição de lobelina a 1:80 mil.

Fig. 4

Prostates de rat. En haut: rat 176, 28 jours après la castration; en bas rat 188, normal. La première flèche signale l'addition au bain de chlorhydrate d'ephédrine (1:80.000) et la deuxième l'addition de lobéline (1:80.000).

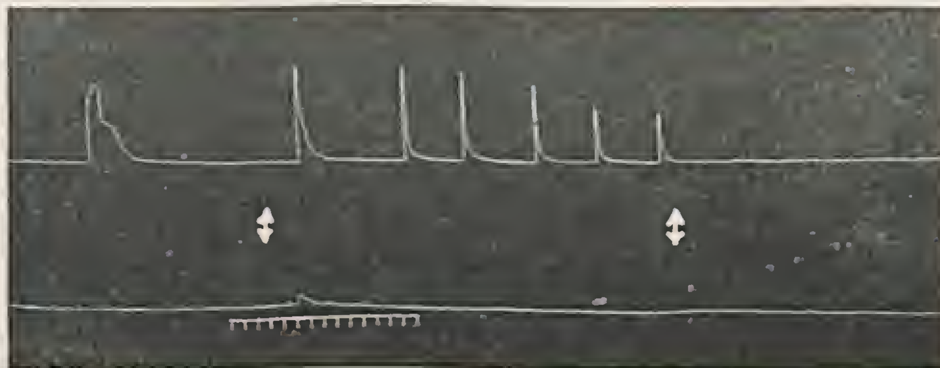


Fig. 5

Canais deferentes de ratos castrados de 8 dias.
Em cima: Rato 297, testemunha.
Em baixo: Rato 295, tratado com propionato de testosterona.
A primeira flecha indica a adição ao banho de cloridrato de bulbocapnina a 1:25 mil e a segunda a adição de cloridrato de adrenalina a 1:500 mil.

Fig. 5

Déférents de rat, 8 jours aprés la castration. En haut, rat 297, castré témoin. En bas, rat 295, traité par le propionate de testosterone.
Première flèche addition de la bulbocapnine (1:25.000), deuxième flèche adrénaline (1:500.000).

Pitressina e Pitocina (1 a 2 u. i. em 50 ccs. de Locke). Depois dos resultados inconstantes obtidos com a pituitrina, ensaiamos estes dois principios posthipofisarios. Na maioria dos casos os resultados foram negativos. Efeitos inibidores foram registados em alguns casos com a pitressina depois de drogas excitantes.

Hormonios sexuais. Em algumas experiencias procuramos a ação da testosterona, do estradiol e da progesterona, de 0.25 a 2 mgs. da substancia hormonal cristalina, dissolvidos em 0.1 a 0.2 cc. de alcool absoluto. Os resultados foram inconstantes e, na grande maioria das vezes, negativos. Foram ensaiados ainda extratos aquosos de foliculos e corpos amarelos de ovarios de animais de laboratorio e de matadouro tambem com resultados inconstantes. Não pudemos comprovar, o efeito excitante de extratos de corpos luteos assinalado por Matsumoto e Macht (12).

CONCLUSÃO

Das novas drogas estudadas neste trabalho a cocaina e a esparteina excitaram a contratilidade da genitalia masculina de ratos na dependencia das condições hormonais dos doadores. A lobelina e a bulbocapnina, bons excitantes do ritmo, provocam, em determinadas condições, efeitos inibidores. A adição previa de bulbocapnina ao banho nutridor anula ou inverte os efeitos da adrenalina. Os resultados com a veratrina, pitocina e pitressina foram inconstantes. Tambem não exerceram efeitos caracteristicos nem os hormonios sexuais cristalizados dissolvidos em pequeno volume de alcool absoluto, nem extratos aquosos de foliculos e de *corpora lutea* de animais de laboratorio e matadouro.

ÉTUDE "IN VITRO" DE LA MUSCULATURE LISSE GÉNITALE MASCULINE DE RATS EN DIFFÉRENTES CONDITIONS HORMONALES

Poursuivant notre étude sur la Pharmacologie "in vitro" des organes genitaux masculins de rats, en différentes conditions hormonales, et employant la même méthode décrite dans nos travaux antérieures (1-10), nous avons eu l'occasion d'examiner les effets des drogues suivantes, additionnées au bain nourricier de Locke, oxygéné et à 38° ± 0.5°: cocaïne, sparteine, vératrine, lobéline, bulbocapnine, pitressine, pitocine et hormones sexuelles.

Les effets décrits dans ce travail se basent sur l'étude de 22 déférents, 21 vésicules et 10 prostates de rats normaux; 33 déférents, 37 vésicules et 14 prostates de rats châtrés traités au propionate de testostérone; et 23 déférents, 27 vésicules et 18 prostates de rats châtrés traités au benzoate d'oestradiol.

Les organes étaient retirés de 2 a 90 jours de castration; le traitement hormonal consistait en injections huileuses de 5 mgs. de propionate de testosterone, ou 1 a 2 mgs. de benzoate d'oestradiol, tous les 4 ou 5 jours.

Résultats: *Chloridrate de cocaïne* (1:25.000 — 1:50.000). Contraction rythmique des canaux déférents, vésicules et prostates provenant d'animaux châtrés, ou châtrés et traités par l' ostradiol; contraction prédominanment tonique des déférents d'animaux ou d'animaux châtrés et injectés par la testostérone. Les vésicules et les prostates d'animaux normaux ou d'animaux châtrés et traités par la testostorone sont très peu sensibles à la drogue qui, dans la majorité des cas, ne provoque aucun effet.

Nous nous sommes efforcés de vérifier si la cocaïne sensibilisait les organes pour les effets de l'adrenaline. Chez les déférents, les vésicules et les prostates de toutes les catégories expérimentales, l'addition de l'adrénaline après la cocaïne provoque des contractions plus amples et des effets toniques plus prononcés que lorsque la drogue était appliquée toute seule (Fig. 1).

Sulfate de spartéine (1:10.000 — 1:50.000). C'est un stimulant des contractions rythmiques des déférents d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol. Les déférents des animaux normaux ou traités au propionate de testostérone sont peu sensibles à cette drogue; ils réagissent seulement aux concentrations plus fortes avec de petites contractions toniques. Les vésicules et les prostates sont peu reactives, même lorsqu'il s'agit d'animaux châtrés ou traités au benzoate d'oestradiol. Chez les organes d'animaux normaux ou traités par la testostérone, dans la majorité des cas, il ne se produit aucun effet (Fig. 2).

Vératrine (1:8.000 — 1:25.000). Résultats inconstants. Les déférents, vésicules séminales et prostates d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol, reagissent par des contractions rythmiques. Chez les organes d'animaux normaux ou traités par la testostérone, quelques déférents ont manifesté un léger effet tonique (Fig. 3).

Lobéline (1:25.000 — 1:50.000). La lobéline est un bon excitant du rythme des déférents d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol; mais les effets sont passagèrs. Chez les animaux normaux ou traités par la testostérone l'effet est nul ou faiblement tonique. Sur les vésicules et prostates, l'action est nulle et même parfois inhibitrice, lorsque les organes présentent déjà des contractions. A cause de ce résultat, nous avons vérifié l'action de la lobéline sur les contractions provoquées par d'autres drogues: éphédrine, acetylcholine, chlorure de baryum, pilocarpine. Pour une partie des expériences, il y a eût inhibition, les contractions cessèrent ou leur ampleur et fréquence diminuièrent. Cet effet est plus net sur les vésicules (Fig. 4).

Chloridrate de bulbocapnine (1:25.000 — 1:50.000). Effets inconstants sur les déférents d'animaux normaux et châtrés traités par la testostérone; excitation rythmique des organes provenant d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol. Les effets sur les vésicules et les prostates ont été en général nuls; parfois, il y a inhibition des contractions provoquées par d'autres drogues, comme chlorure de baryum, éphédrine, cocaïne, tant pour les déférents que pour les vésicules et prostates. L'addition préalable au bain de bulbocapnine annule ou invertit l'action de l'adrénaline, effet comparable à celui de l'ergotamine et de le yohimbine et déjà rapporté par Molitor (11) dans un autre ordre de recherches (Fig. 5).

Pitressine et Pitocine (1 a 2 unit. int. dans 50 cc. de Locke). Après des résultats inconstants obtenus avec la pituitrine, nous avons assayé ces deux principes posthypophysaires. Dans la majorité des cas, les résultats ont été negatifs. Des effets d'inhibition ont été enregistrés dans quelques cas avec la pitressine après des drogues excitantes.

Hormones sexuelles. Dans quelques experiences nous avons essayé la testostérone, l'oestradiol et la progesterone (0.25 a 2 mgs. dissoutes dans 0.1 a 0.2 cc. d'alcool absolu). Les résultats ont été inconstants ou négatifs. Nous n'avons pas aussi observé une action evidente des extraits aqueuses des follicules ni l'effet excitant des extraits des corps jaunes signalé par Matsumoto et Macht (12).

En conclusion: les résultats rapportés ici confirment nos travaux anterieurs. Les canaux déférents, vésicules seminales et prostates des rats châtrés ou traités par l'oestradiol sont plus excitables, et presentent des contractions de type predominanment rythmique. Chez les normaux ou traités par la testostérone, l'excitabilité est faible, et le type de contraction tonique.

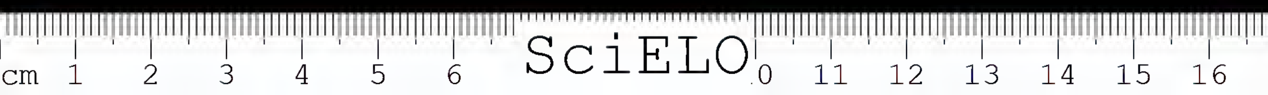
BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Influence de la castration sur la motilité du canal déférent du rat — C. R. Soc. Biol. **127**:464.1938.

2. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Pharmacologie comparée des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro", de rats normaux et de rats castrés — C. R. Soc. Biol. **127**:1381.1938.

3. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Contractilité et reactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro" de rats castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **127**:1385.1938.

4. *Martins, Thales & Porto, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales après conservation a basse température, de rats normaux, castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **127**:1389.1938.



5. *Martins, Thales* — Contractilité et pharmacologie comparée "in vitro" de la prostate de rats normaux et de rats châtrés et injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **129**:71.1938.

6. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Action de la spermine et de la yohimbine sur la contractilité "in vitro" des glandes annexes males de rats, des cobayes et des singes *Cebus* et *rhesus* — C. R. Soc. Biol. **129**:1129.1938.

7. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Nouvelles données sur la pharmacologie "in vitro" des canaux déférents, des vésicules séminales et des prostates de rats normaux, castrés ou injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **129**:1148.1938.

8. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — Endocrinology **25**:80-90.1939.

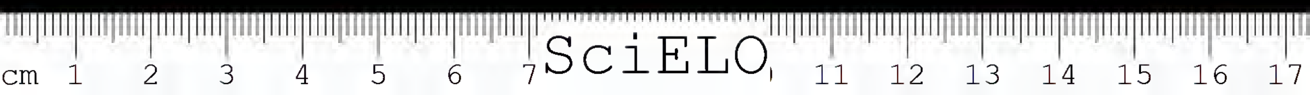
9. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Neuere Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exper. Medizin **105**:512-520.1939.

10 *Porto, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques "in vivo" des canaux déférents et des vésicules séminales du rat castré et traité par des hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **131**:311.1939.

11. *Molitor, Hans* — Some undescribed pharmacological properties of bulbocapnin — J. Pharm. & Exper. Therap. **62**:16-25.1938.

12. *Matsumato, S. & Macht, D. I.* — A pharmacological study of ovarian and corpus luteum extracts, with a special reference to the contractions of the genito-urinary organs — J. of Urology **3**:63.1919.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue em agosto de 1940 e dado à publicidade em dezembro de 1940).




SciELO

SOBRE A DURAÇÃO DO TRATAMENTO NECESSARIO PARA QUE OS HORMONIOS SEXUAIS INFLUAM SOBRE A CONTRALIDADE "*IN VITRO*", DOS CANAIS DEFERENTES E VESICULAS SEMINAIS DE RATOS CASTRADOS

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Em trabalhos anteriores demonstramos que a testosterona tem ação inibidora e o estradiol excitadora da contratilidade e da excitabilidade dos canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos (1,2), macacos *rhesus* (3) e gatos (4), a julgar pelo seu comportamento "*in vitro*".

Os canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos castrados apresentam, na sua quasi totalidade, movimentos espontaneos; reagem bem à pilocarpina, efedrina, cocaina e outras drogas excitantes ensaiadas; tambem o tipo de contração, além de mais amplo, é qualitativamente diferente: preponderantemente ritmico no castrado e preponderantemente tonico no normal.

Dadas estas diferenças de comportamento "*in vitro*" da musculatura lisa genital masculina de ratos, dependentes das condições hormonais dos doadores, seria interessante determinar qual o periodo minimo de aparecimento dos sintomas funcionais da castração e qual o limiar dos efeitos corretivos da testosterona. Poderia ser analisada nesse sentido, tambem, a influencia do benzoato de estradiol.

MATERIAL E METODO

Os ratos adultos de 160 a 220 gs. utilizados foram divididos em dois grupos experimentais:

a) *Tratamento preventivo,* em que, logo após a castração um certo numero de ratos recebia uma injeção de propionato de testosterona (5 ou 10 mgs. em 1 cc. de oleo de sesamo) ou de benzoato de estradiol (1 ou 2 mgs. em 1 cc. de oleo), conservando-se outros sem tratamento.

b) *Tratamento corretivo,* neste caso, os animais só recebiam a injeção 4 a 21 dias depois da castração (*).

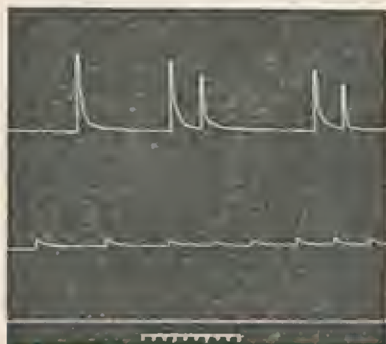


Fig. 1

Canais deferentes de ratos, 6 dias depois da castração. *Em cima*: rato 311, 30 horas depois de uma injeção subcutanea de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 312, 30 horas após a injeção de 1 cc. de oleo de sésamo; *Em baixo*: rato 313, 30 horas depois de uma injeção de 5 mgs. de propionato de testosterona.

Ausencia de contrações espontaneas no tratado com testosterona e maior amplitude das observadas no tratado com estradiol. Na linha de tempo em todas as figuras os intervalos são de 6 segundos.

Fig. 1

Canaux déférents de rats, 6 jours après la castration. De haut en bas: rat 311, 30 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 312, témoin; rat 313, 30 heures après une injection de 5 mgs. de proprionate de testosterone.

L'amplitude des mouvements spontanés est plus grande dans le rat traité par l'oestradiol que dans le rat châtré témoin. Inhibition de l'automatisme par la testosterone. Temps: 6 séc.

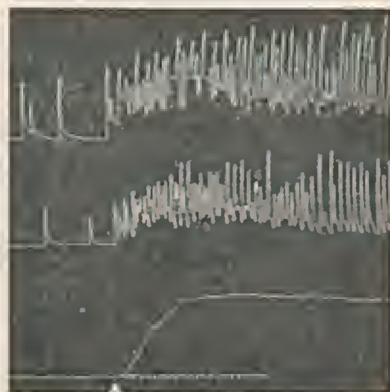


Fig. 2

Canais deferentes de ratos, 72 horas depois da castração. *Em cima*: rato 294, castrado testemunha; *No meio*: rato 293, 72 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *Em baixo*: rato 292, 72 horas depois de uma injeção de 5 mgs. de propionato de testosterona.

A flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:120 mil.

Fig. 2

Canaux déférents de rat 72 heures après la castration. De haut en bas: rat 294, châtré temoin: rat 293, 72 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 292, 72 heures après une injection de 5 mgs. de propionate de testosterone

(Addition de chlorhydrate d'ephédrine 1:120.000).

No primeiro grupo foram estudados 7 canais deferentes e 7 vesiculas seminais de ratos castrados tratados com propionato de testosterona; 8 deferentes e 8 vesiculas de castrados tratados com benzoato de estradiol e 6 deferentes e 6 vesiculas de castrados testemunhas. No segundo grupo foram estudados 64

(*) Agradecemos à Casa Schering os hormonios — Testoviron, Progynon — cedidos gentilmente para a realização destas experiencias.

orgãos, sendo 32 deferentes e 32 vesiculas assim distribuidos: 14 deferentes e 14 vesiculas de ratos castrados e tratados com propionato de testosterona, 5 deferentes e 5 vesiculas de animais castrados, tratados com benzoato de estradiol; 5 deferentes e 5 vesiculas de ratos castrados e tratados com oleo puro e 8 deferentes e 8 vesiculas de castrados não tratados.

Depois da anestesia dos doadores com eter os orgãos eram extirpados, desembaraçados dos tecidos adjacentes e levados para um frasco, contendo liquido de Locke oxigenado, mergulhado num termostato a 36º-38º, tomando-se ao mesmo tempo e no mesmo banho os traçados das contrações longitudinais de 2 a 3 orgãos pertencentes a animais diferentes. Em todos os grupos as experiencias "*in vitro*" foram feitas 24, 30, 50, 54, 72 e 120 horas após a injeção hormonal.

Para bem interpretar as experiencias, é bom sublinhar que no grupo *a)* os resultados mais interessantes são os que revelam o aparecimento dos sintomas de castração, nos animais não tratados com testosterona; e, no grupo *b)*, o desaparecimento daqueles sinais, nos tratados com este hormonio.

RESULTADOS

Tratamento preventivo: Os orgãos de animais tratados pelo propionato de testosterona conservaram seu tipo normal de comportamento.

Nos castrados testemunhas ou nos tratados pelo estradiol já ha leves sinais de alteração nos deferentes, revelando um aumento da excitabilidade nas primeiras 24 horas: reação leve à pilocarpina e esboçando-se tipo ritmico misto (tonus com oscilações) à junção das outras drogas (acetilcolina, adrenalina, cocaina e cloreto de bario nas concentrações referidas em nossos trabalhos anteriores).

As diferenças vão se acentuando à medida que se alonga o periodo de tratamento, chegando ao "grand complet" em 72 horas. No que concerne ao automatismo, só apareceram, nesta serie, casos positivos nos grupos de 54 horas em diante. Todavia, em experiencias anteriores, já obtivemos casos de automatismo nitido de deferentes com 24 e 48 horas após a castração. Quanto ao papel do benzoato de estradiol, si bem que não seja dos mais pronunciados, nos periodos curtos citados, é bem constatavel; de fato, o automatismo foi mais nitido nos orgãos dos ratos injetados com este hormonio, que apresentam tambem um tipo de ritmo mais puro sob à ação das drogas.

Quanto às vesiculas seminais, o aparecimento das alterações de castração é mais lento para certos sintomas. Até 72 horas nenhuma vesicula de castrados não tratados com testosterona demonstrou automatismo ou reação à pilocarpina.

Entretanto, a reação à efedrina (que é negativa nas vesiculas de normais ou tratados pela testosterona) já é positiva com 24 horas, tornando-se cada vez mais ampla com o decorrer do tempo. A reação ritmica ou mista às outras drogas começa a ser constatada com 30 horas e a reação à cocaina com 54 horas. No grupo de 72 horas faltam apenas o automatismo e a reação à pilocarpina para completar todos os sinais da castração. Não se verificou ação nitida de benzoato de estradiol no sentido de acelerar o aparecimento dos sinais de castração.

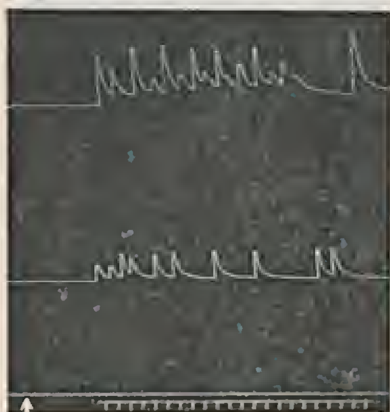


Fig. 3

Canais deferentes de ratos castrados 72 horas antes. *Em cima*: rato 305, 72 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 306, castrado, testemunha; *Em baixo*: rato 307, 72 horas depois de uma injeção de 10 mgs. de propionato de testosterona.

Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:100 mil.

Fig. 3

Déférents de rats 72 heures après la castration. De haut en bas: rat 305, 72 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 306 châtré temion; rat 307, 72 heures après une injection de 10 mgs. de propionate de testosterone.

Addition de chlorhydrate de pilocarpine (1:100.000).

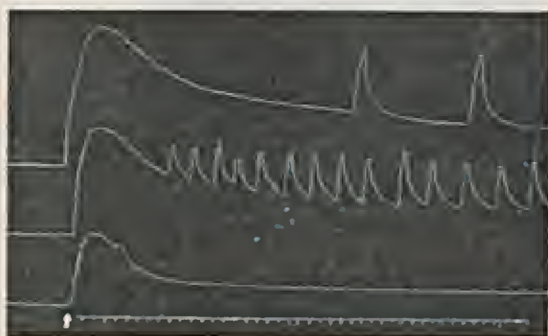


Fig. 4

Vesiculas seminais de ratos castrados 10 dias antes. *Em cima*: rato 302, 30 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 304, testemunha; *Em baixo*: rato 303, 30 horas depois de uma injeção de 10 mgs. de propionato de testosterona.

Efeitos da adição de cloridrato de acetilcolina a 1:100 mil.

Fig. 4

Vésicules seminales de rat, 10 jours après la castration. De haut en bas: rat 302, 30 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 304 témoin; rat 303, 30 heures après une injection de 10 mgs. de propionate de testosterone.

Addition d'acetylcholine (1:100.000).

Tratamento corretivo: Nos castrados não tratados o comportamento é evidentemente o tipico da castração. Procuramos, neste caso, o tempo necessario para que, sob a ação da testosterona, a contratilidade volte ao tipo normal. Os efeitos são aqui mais rapidos nas vesiculas do que nos deferentes. De fato, já

com 30 horas após a injeção de propionato de testosterona desapareceu a reação à pilocarpina nas vesiculas e na resposta às outras drogas começa a dominar o efeito tonico. Nas vesiculas de 72 horas de tratamento só ha de discrepante a reação positiva à efedrina. Nos deferentes, si bem que em alguns já se delineiem certas modificações com 24 a 30 horas pode-se admitir 48 horas de tratamento com testosterona como o periodo de diferenças incontestaveis: ausencia de automatismo e de reação à pilocarpina; tonus cada vez mais pronunciado após a adição de drogas. Com 72 horas a recuperação do tipo normal é praticamente completa.

Em conclusão: As modificações do comportamento *"in vitro"* dos canais deferentes e vesiculas seminais e que se traduzem num aumento da contratilidade e excitabilidade dos mesmos, após a castração, aparecem com relativa rapidez após a extirpação das gonadas (30 — 72 horas), sendo completamente prevenidas pela injeção de propionato de testosterona. Por outro lado, o tratamento com este hormonio, de ratos 4 a 21 dias após a castração, já exerce efeitos constataveis a partir de 30 horas para as vesiculas e 48 horas para os deferentes; como limites para a apreciação de resultados indiscutiveis podemos fixar respectivamente 48 e 72 horas. O espaço de tempo relativamente curto para a manifestação dos efeitos da testosterona aqui descritos, além de outros argumentos já citados em trabalhos anteriores deste laboratorio, fazem-nos crêr que a ação dos hormonios sexuais, neste caso, é principalmente funcional, sem grande dependencia das ações morfogenicas exercidas pela testosterona sobre os orgãos aqui estudados.

RESUMO

As alterações funcionais de castração traduzidas pelo aparecimento de automatismo e aumento da excitabilidade farmacologica *"in vitro"* da musculatura lisa genital masculina de ratos começam a aparecer para os canais deferentes 24 horas e para as vesiculas seminais 30 horas depois da extirpação das gonadas. Depois de 72 horas os sinais são completos nos deferentes mas nas vesiculas faltam ainda o automatismo e a resposta à efedrina. Já no tratamento corretivo, isto é, feita a injeção depois de instalados aqueles sintomas, a vesicula é mais sensivel do que o deferente à presença de testosterona circulante. As alterações funcionais de castração começam a desaparecer nas vesiculas 30 horas e nos deferentes 48 horas depois da injeção hormonal. Quanto ao benzoato de estradiol, foi observado que, para os canais deferentes, nas primeiras 72 horas, ele pode aumentar a incidencia de automatismo e reforçar o tipo ritmico da resposta às drogas ensaiadas.

SUL LA DURÉE DU TRAITEMENT NÉCESSAIRE POUR QUE LES HORMONES SEXUELLES INFLUENT SUR LA CONTRACTILITÉ "IN VITRO" DES CANAUX DÉFÉRENTS ET DES VÉSICULES SÉMINALES DE RATS CHÂTRÉS

Il serait intéressant de déterminer quelle est la durée minima de traitement nécessaire pour que puissent se constater les effets des hormones sexuelles que nos avons déjà décrits. Pour la bonne compréhension nous résumerons les principales différences de comportement entre les organes de rats normaux et châtrés lorsqu'ils sont placés dans le liquide de Locke *"in vitro"*. Les déférents, les vésicules séminales et les prostates des animaux châtrés, présentent, dans leur quasi totalité, des mouvements spontanés; ils réagissent bien à la pilocarpine, à l'éphédrine, à la cocaïne et à d'autres drogues excitantes essayées. Le type de contraction est aussi qualitativement différent: prépondéramment rythmique dans l'animal châtré, et tonique chez le normal.

Méthode: Les organes, après extirpation, étaient placés dans un flacon contenant du liquide de Locke, à la température de 36 à 38°; on prenait en même temps, et dans le même bain, les tracés des contractions longitudinales de 2 ou 3 organes appartenant à des animaux différents.

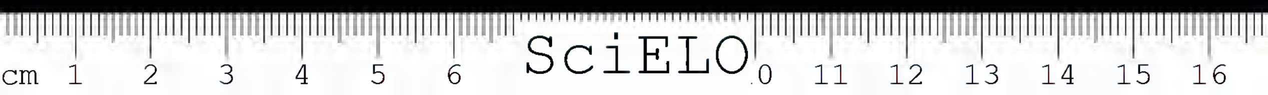
a) *Traitement préventif*: Le jour même de la castration, un certain nombre de rats recevait une injection de propionate de testosterone (5 ou 10 mgs dans 1 cc. d'huile de sésame) ou de benzoate d'oestradiol (1 ou 2 mgs. dans 1 cc. d'huile); d'autres rats étaient conservés sans traitement.

Dans ce groupe il y a ëut 7 déférents et 7 vésicules de rats châtrés et traités au propionate destosterone, 8 déférents et 8 vésicules de rats châtrés traités au benzoate d'oestradiol et 6 déférents et 6 vésicules de rats châtrés témoins.

b) *Traitement correctif*: Dans ce cas, les animaux recevaient l'injection de 4 à 21 jours après la castration. On étudia 64 organes, dont 32 déférents parmi lesquels 14 furent traités au propionate de testostérone, 5 au benzoate d'oestradiol et 13 châtrés simples; et des vésicules, en nombre et traitement identiques. Dans tous ces groupes, les expériences *"in vitro"* furent faites 24, 30, 50, 54, 72 et 120 heures après l'injection de l'hormone. Le poids des rats varia de 160 à 220 gs..

Pour bien interpréter les expériences il est bon de souligner que dans le groupe *a*) les résultats les plus intéressants sont ceux qui révèlent l'apparition de symptomes de castration, sous le point de vue de la contractilité, dans les animaux non traités par la testostérone; et dans le group *b*) la disparition de ces signes chez les animaux traités avec cette hormone.

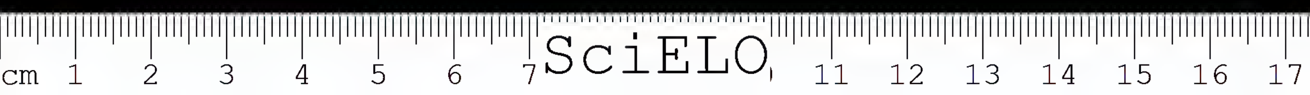
6



Résultats: *Traitement préventif* — Les organes d'animaux traités au propionate de testostérone conservèrent leur type normal de comportement.

Chez les animaux châtrés témoins ou chez ceux traités au oestradiol il y a déjà de symptômes d'altération des déférents, révélant une augmentation d'excitabilité dans les premières 24 heures: réaction légère à la pilocarpine et ébauche du type rythmique ou mixte (tonus avec oscillations) après la jonction des autres drogues (acétylcholine, adrénaline, cocaïne et chlorure de barium) dans les concentrations rapportées dans nos travaux antérieurs. Les différences augmentent à mesure que s'allonge la période de traitement, arrivant au grand complet en 72 heures. Pour ce qui concerne l'automatisme, des cas positifs apparurent seulement après 54 heures. Toutefois, dans des expériences antérieures, nous avons obtenu des cas d'automatisme net de déférents, 24 et 48 heures après la castration. Quant au rôle du benzoate d'oestradiol, bien qu'il ne soit pas des plus prononcés, dans les courtes périodes citées, il est bien constatable. De fait, l'automatisme fût plus net chez les organes des rats injectés avec cette hormone, lesquels présentent aussi un type de rithme plus pur sous l'action des drogues. Quant aux vésicules séminales, l'apparition des altérations de la castration est plus lent. Jusqu' à 72 heures, aucune vésicule d'animaux châtrés témoins ne démonstra automatisme ou réaction à la pilocarpine. Cependant la réaction à l'éphédrine (qui est négative dans les vésicules d'animaux normaux ou traités par la testostérone) est déjà positive après 24 heures, devenant de plus en plus ample avec le temps. La réaction rythmique ou mixte à d'autres drogues commence a être constatée après 30 heures et la réaction à la cocaïne après 54 heures. Dans le groupe de 72 heures manquent à peine l'automatisme et la réaction à la pilocarpine pour compléter tous les symptômes de la castration. Il ne se vérifia pas d'action nette du benzoate d'oestradiol dans le sens d'accélérer l'apparition des signaux de castration.

Traitement correctif — Chez les animaux châtrés non traités, le comportement est évidemment celui typique de la castration. Nous rechercherons, dans ce cas le temps nécessaire pour que, sous l'action de la testostérone, la contractilité revienne au type normal. Les effets sont ici plus rapides chez les vésicules que chez les déférents. De fait, 30 heures après l'injection de propionate de testostérone, disparut la réaction des vesicules à la pilocarpine, et l'effet tonique commence à dominer dans la réponse aux autres drogues; cependant, la réaction positive à l'éphedrine peut persister jusqu'a 72 heures. Chez les déférents, bien que dans quelques cas certaines modifications s'ebauchent déjà après 24 heures ou 30 heures, on peut admettre 48 heures de traitement par la testostérone comme période de différences bien appréciables: absence d'automatisme et de réaction à la pilocarpine; tonus de plus en plus prononcés après l'addition des drogues. Après 72 heures, la récupération du type normal est pratiquement complète.



Conclusion: Les modifications du comportement *"in vitro"* des canaux déférents et des vésicules séminales et qui se traduizent par une augmentation de la contractilité et de l'excitabilité des mêmes, après la castration, apparaissent avec une relative rapidité après l'extirpation des gonades (30 à 72 heures), et sont évitées par le traitement avec la testostérone. D'autre part, le traitement des rats, 4 a 21 jours après la castration, avec le propionate de testosterone, exerce déjà des effets constatables à partir de 30 heures (vésicules) et 48 heures (déférents), après la première injection. Comme limites pour l'appréciation de résultats indiscutables nous pouvons fixer respectivement 48 et 72 heures. L'espace de temps relativement court pour la manifestation des effets de la testostérone nous fait croire que l'action des hormones sexuelles sur la contractilité des organes genitaux étudiés est principalement fonctionnelle, sans grande dépedance des actions histogeniques exercées par la testostérone.

BIBLIOGRAFIA

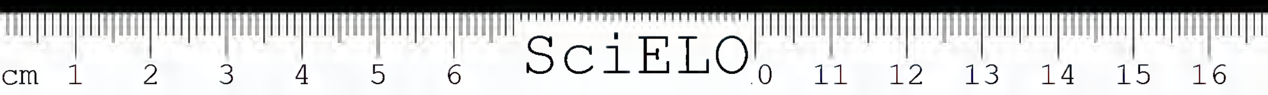
1. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — Endocrinology **25**:80.1939.

2. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Neure Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exper. Medizin **105**:512.1939.

3. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Die endokrine Kontrolle der Motilität der männlichen akzessorischen Genitalorgane. Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter und Samenblasen von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Thesusaffen — Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. des Manschen u. d. Tiere **242**:134.1939.

4. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter normaler, kastrierter und mit Sexualhormonen behandelter Katzen — Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **243**:243.1940.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).



611.63:612.602

ESTUDO MORFOLOGICO E FUNCIONAL DE ENXERTOS DE ORGÃOS GENITAIS ACESSORIOS DE RATOS E COBAIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES HORMONAIS

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Em trabalhos anteriores deste Laboratorio mostramos que a contratilidade e a excitabilidade farmacologica dos orgãos genitais accessorios masculinos são reguladas pelas condições hormonais dos doadores. No rato, este controle é bem evidenciado pelo exame comparativo "in vitro" dos orgãos provenientes de normais, castrados e de castrados injetados com substancias androgenicas e estrogenicas. Nos cobaios, entretanto, a influencia da castração e a ação inibidora da testosterona não são tão evidentes como no rato; não obstante, o tratamento com estradiol parece exagerar a já notavel excitabilidade dos orgãos provenientes de doadores normais. Particularmente interessante nesta especie é a variação dos efeitos da adrenalina: os orgãos provenientes de cobaios normais, castrados ou castrados tratados com testosterona, são excitados, enquanto que os provenientes de doadores tratados com estradiol são deprimidos.

O presente trabalho foi feito com o fito de se verificar si as modificações de comportamento acima descritas e dependentes do tratamento hormonal, seriam tambem observadas nos orgãos transplantados, isto é, deslocados de suas conexões nervosas habituais. Poder-se-ia, deste modo, eliminar a influencia dos centros, analisando mais a fundo o mecanismo de ação dos hormonios sexuais na regulação daquela motilidade.

MATERIAL E METODO

Foram operados, sob anestesia pelo éter, 21 ratos de 110 a 240 gs. e 30 cobaios de 450 a 700 gs.. Depois da castração total ou unilateral os orgãos eram enxertados na parede muscular dorsal ou abdominal, no estomago ou no mesente-

rio proximo às alças intestinais. No rato foram enxertados o deferente e a vesicula seminal com o lobo cranial da prostata, no cobaio o deferente e o terço distal da vesicula seminal. Em todos os animais operados os orgãos contralaterais eram mantidos "in situ" para estudo comparativo.

Logo depois da operação era iniciado o tratamento hormonal que consistia em injeções subcutaneas, cada 4 ou 6 dias, de 5 a 10 mgs. de propionato de testosterona ou de 0.5 a 1 mg. de benzoato de estradiol, dissolvidos em 0.5 a 1 cc. de oleo de sesamo. (*)

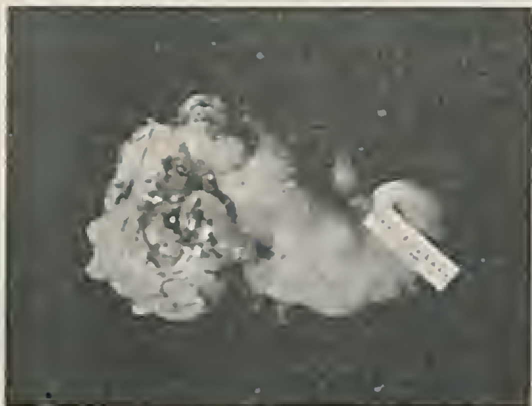


Fig. 1

Vesicula seminal enxertada na face anterior do estomago do rato 6, hemicastrado, operado 63 dias antes e tratado durante este periodo com 45 mgs. de propionato de testosterona (10 mgs. em implantação e 35 mgs. em 7 injeções oleosas cada 4 dias).

Abb. 1

In die Magenwand verpflanzte Samenblase der einseitig kastrierten Ratte 6, 63 Tage vorher operiert und mit 45 mg Testosteronpropionat behandelt.

Na maioria dos casos, para se assegurar das bôas condições do enxerto, as injeções de estradiol eram feitas depois de um tratamento previo com testosterona. Nos ratos, em alguns casos, foi utilizada tambem a implantação subcutanea do hormonio (androsterona, testosterona) em granulos de 5 a 20 mgs. Em alguns

---

(*) Agradecemos à Casa Schering o material hormonal posto amavelmente à nossa disposição para a realização destas experiencias.

casos, tambem, cerca de um mês depois da operação, era feita uma laparotomia para se observar as condições do enxerto.

Entre 30 a 83 dias depois da operação, os orgãos eram retirados para o estudo morfologico e funcional. Foram utilizados 16 ratos: 2 hemicastrados, 5 castrados, 5 castrados tratados com testosterona e 4 castrados tratados com estradiol e 10 cobaios: 2 hemicastrados, 4 castrados tratados com testosterona e 4 castrados

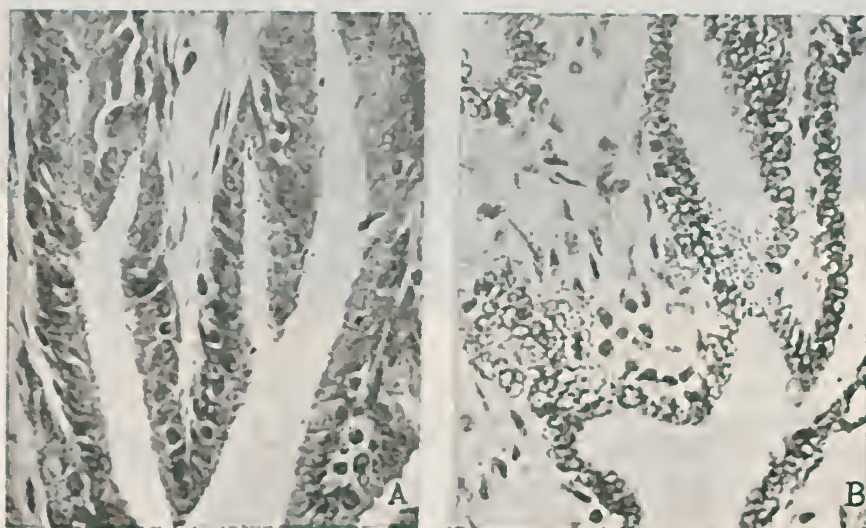


Fig. 2

Microfotos de vesiculas seminais de ratos. (Hem. Eos. 530 x).

A — Vesicula enxertada na face anterior do estomago. Rato 10, castrado, operado 62 dias antes e tratado com propionato de testosterona (60 mgs. em 12 injeções oleosas subcutaneas).

B — Vesicula "in situ". Rato 13, castrato, de 56 dias.

Abb. 2

Samenblasen von Ratten (Mikrophot. Hem. Eos. 530x).

A — Verpflanzte Samenblase. Ratte 10, 62 Tage nach der Kastration mit 60 mg Testosteronpropionat, auf 12 Injektionen verteilt, behandelt.

B — Samenblase "in situ". Ratte 13, 56 Tage nach der Kastration.

tratados com estradiol. Depois do exame macroscopico e da retirada de pequeno fragmento para as preparações histologicas, os orgãos eram dissecados e levados para o banho nutridor de Locke, oxigenado e a 38°, para o estudo comparativo em grupos de dois: o orgão transplantado e o orgão "in situ" colocados no mesmo frasco e fixos a alavancas inscritoras com carga de 0.5 a 1 g. e ampliação de 1 x 6.

Depois de um periodo de 30 a 40 minutos para o registo das contrações espontaneas eventuais, era estudada a ação de varias drogas que, como a adrenalina, a acetilcolina, a pilocarpina, a efedrina, a cocaina e o bario, provocam respostas caracteristicas nos orgãos de ratos. No caso dos orgãos de cobaios, além do estudo dos efeitos das drogas enunciadas, tinha especial interesse a analise da ação da adrenalina.

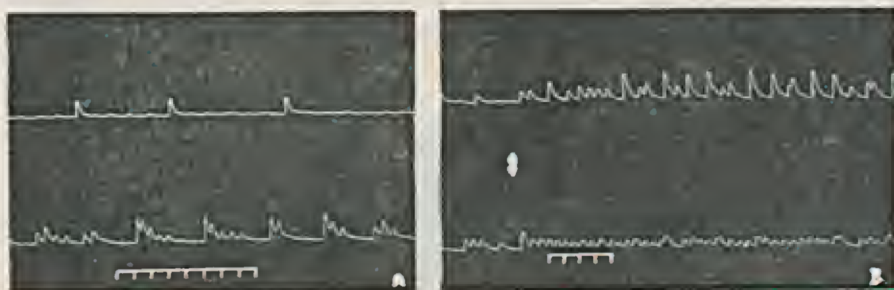


Fig. 3

Vesiculas seminais imersas em liquido de Locke. Rato 18, operado 54 dias antes e tratado com 10 mgs. de propionato de testosterona e a seguir com 7 mgs. de benzoato de estradiol.

Em cima — Vesicula "in situ".

Em baixo — Vesicula enxertada na face anterior do estomago.

A — Registo das contrações espontaneas

B — Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:100.000. Notar o mesmo tipo de resposta do orgão "in situ" e do orgão transplantado.

(Em todos os graficos cada sinal na linha de tempo marca 6 segundos).

Abb. 3

Samenblasen von Ratte 18 in Locke'scher Lösung eingetaucht, 54 Tage nach der Kastration mit 10 mg Testosteronpropionat und danach mit 7 mg Oestradiolbenzoat behandelt.

Oben — Samenblase "in situ".

Unten — Verpflanzte Samenblase.

A — Spontankontraktionen.

B — Wirkung des Pilokarpinchlorhydrates; Verdünnung 1:100.000 Gleiche Wirkung bei beiden Fällen.

(Bei allen Abbildungen markiert die Zeitlinie Intervalle von 6 Sekunden).

RESULTADOS

1. *Resultados morfologicos. a) Ratos:* Dos 21 animais operados 16 foram aproveitados e forneceram 12 deferentes, 16 vesiculas e 14 coaguladoras transplantados. Os orgãos em melhores condições foram os isolados da face anterior e posterior do estomago de animais tratados com a testosterona. As

vesiculas se apresentaram bem vascularizadas e distendidas pelas secreções acumuladas no seu interior (vide Fig. 1), os deferentes facilmente destacaveis e as coaguladoras, em geral, cisticas. O exame microscopico confirmou o achado macroscopico. Nos castrados tratados com testosterona o epitelio vesicular normal,



Fig. 4

Em cima — Vesicula "in situ" do rato 259, castrado, de 70 dias.

No centro — Vesicula enxertada no duodeno do rato 4, 56 dias depois da operação e tratado com propionato de testosterona (Implantação de 15 mgs.).

Em baixo — Vesicula "in situ" do rato 4.

A flecha assinala adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:50.000. Observar a ausencia de reação tanto no orgão "in situ" como no orgão enxertado do rato 4.

Abb. 4

Samenblasen von Ratten.

Oben — Samenblase "in situ" der Ratte 259, 70 Tage nach der Kastration.

Mitte — In den Duodenum verpflanzte Samenblase der Ratte 4, 56 Tage nach der Operation und mit 15 mg Testosteronpropionat implantiert.

Unten — Samenblase "in situ" der Ratte 4.

Zugabe von Pilokarpinchlorhydrat (1:50.000). Keine Reizung beim Organ "in situ", noch beim verpflanzten der Ratte 4.

isto é, formado de celulas bem individualizadas com protoplasma granuloso, era observado tambem no orgão enxertado. As alterações histologicas de castração, no nosso caso observadas nos orgãos de animais cujo tratamento com a testosterona tinha sido suspenso, foram registadas igualmente nos orgãos transplantados.

b) Cobaios: Nesta especie foi alta a mortalidade operatoria. De 30 animais operados 10 serviram de base para este estudo, tendo sobrevivido somente os animais com enxertos na parede muscular do abdome ou no estomago. De 10 deferentes e 10 vesiculas enxertadas foram identificados à autopsia respectivamente 9 e 4 orgãos, os demais tendo sido reabsorvidos. O melhor aspecto dos orgãos enxertados é encontrado nos castrados tratados com testosterona ou nos hemicastrados. As vesiculas se apresentam de paredes finas e cheias de liquido

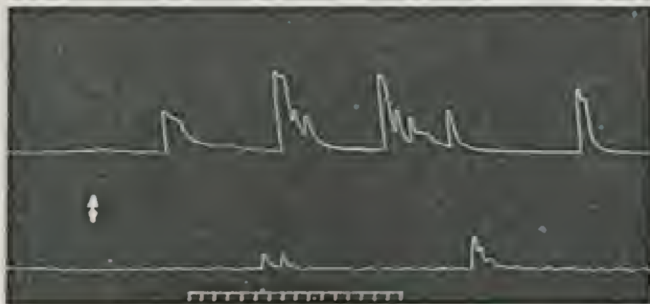


Fig. 5
Canais deferentes. Rato 9, castrado, operado 64 dias antes.
Em cima — Deferente "in situ".
Em baixo — Deferente contralateral enxertado no mesenterio.
Efeitos da adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:50.000.

Abb. 5
Samenleiter. Ratte 9, 64 Tage nach der Kastration.
Oben — Samenleiter "in situ".
Unten — Kontralateraler Samenleiter in das Mesenterium verpflanzt.
Zugabe von Ephedrinchlorhydrat (1:50.000).

fluido; ao exame microscopico as celulas epiteliais se apresentam com protoplasma granuloso e as franjas da mucosa, pelo acumulo de liquido, estão apertadas de encontro à tunica muscular. Em alguns casos, graças ao metodo de Cajal de impregnação pela prata depois da fixação em piridina, não se observou a presença de fibras nervosas nos orgãos transplantados, enquanto que elas são numerosas nos orgãos testemunhas mantidos "in situ".

2. *Resultados funcionais. a) Ratos:* Nos diferentes grupos experimentais, o estudo comparativo, no mesmo banho, do orgão "in situ" e do orgão transplantado, não mostrou nenhuma particularidade de comportamento, quer quanto ao automatismo, quer quanto à reatividade e ao tipo de resposta às drogas. Como nos orgãos "in situ", os orgãos enxertados, provenientes de animais castrados

tratados com testosterona, não exibiram contrações espontaneas e apresentaram fraca reatividade farmacologica. A incidencia de automatismo, tanto no grupo

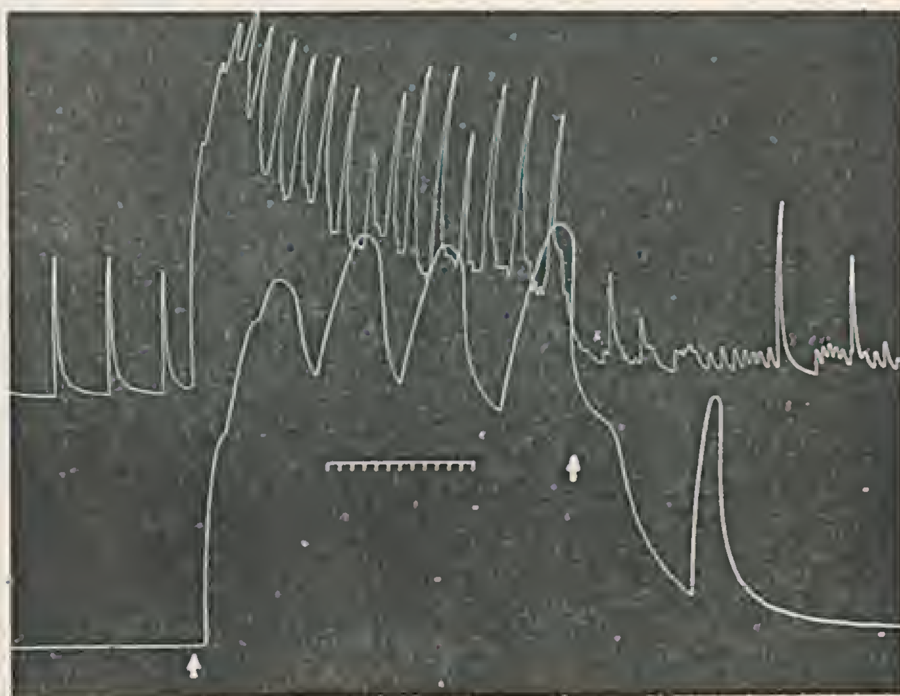


Fig. 6

Canais deferentes. Cobaio 2, operado 71 dias antes, tratado com propionato de testosterona (20 mgs. em 4 injeções) e a seguir com benzoato de estradiol (5 mgs. em 10 injeções).

Em cima — Deferente "in situ".

Em baixo — Deferente enxertado na face anterior do estomago.

A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de acetilcolina (1:100) milhões) e a segunda adição de cloridrato de adrenalina (1:10 milhões). Observar que a inibição pela adrenalina foi obtida tambem no orgão transplantado.

(Orgãos examinados 24 horas depois da conservação em Locke a baixa temperatura).

Abb. 6

Samenleiter vom Meerschweinchen 2, 71 Tage nach der Operation mit 20 mg Testosteronpropionat und danach mit 5 mg Oestradiolbenzoat behandelt.

Oben — Samenleiter "in situ".

Unten — In die vordere Magenwand verpflanzter Samenleiter.

Der erste Pfeil bezeichnet die Zugabe von Acetylcholinchlorhydrat (1:100 Millionen) und der zweite die Zugabe von Adrenalinchlorhydrat (1:10 Millionen). Die hemmende Wirkung des Adrenalins wurde auch beim verpflanzten Organ beobachtet.

(Die Organe wurden nach 24stündigem Aufbewahren in Locke'scher Lösung im Eisschrank beobachtet.).

de castrados simples, como no grupo de castrados injetados com benzoato de estradiol foi comparavel nos orgãos implantados e nos orgãos mantidos "in situ".

As vesiculas enxertadas provenientes de animais castrados tratados com testosterona, si bem que de ótimo aspecto, foram os orgãos de menor reatividade observada. E' provavel que, além da ação inibidora da testosterona, tenham tido influencia depressora as secreções acumuladas no orgão. Aliás, já vimos em trabalhos anteriores que a espermina, constituinte normal destas secreções, exerce efeitos inibidores sobre a contratilidade da musculatura lisa genital masculina.

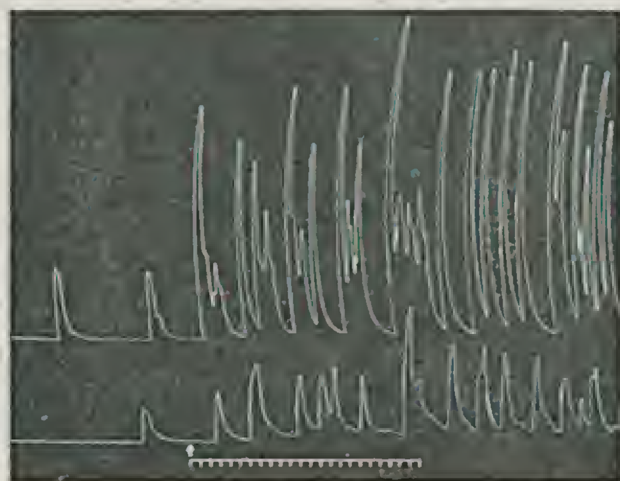


Fig. 7

Canais deferentes do cobaio 141, hemicastrado, operado 68 dias antes.

Em cima — Deferente "in situ".

Em baixo — Deferente contralateral enxertado na face anterior do estomago.

A flecha assinala adição ao banho de cloreto de bario (1:50.000).

Abb. 7

Samenleiter vom Meerschweinchen 141, hemikastriert, 68 Tage nach der Operation.

Oben — Samenleiter "in situ".

Unten — Kontralateraler Samenleiter in die Magenwand verpflanzt.

Zugabe von Bariumchlorid (1:50.000).

b) Cobaios: A não ser a menor amplitude das contrações em alguns casos e certa diminuição da excitabilidade, não observamos diferenças de comportamento entre os orgãos enxertados e os mantidos "in situ". A inibição provocada pela adrenalina nos orgãos de castrados tratados com estradiol foi observada tambem nos orgãos enxertados. Este achado é interessante e mostra que, pelo menos nas condições referidas, o deslocamento do receptor não interfere na

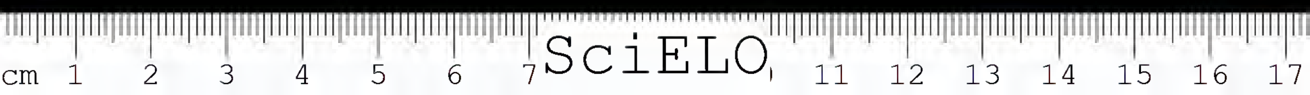
obtenção da variação dos efeitos da adrenalina com o tratamento hormonal, apesar dos efeitos opostos observados, quer pela excitação do simpatico, quer pela aplicação de adrenalina nos orgãos dos territorios nervosos em questão, v. g., estomago e genitalia.

RESUMO

Os orgãos genitais accessorios do rato e do cobaio foram enxertados na parede gastrica ou na abdominal. Os animais eram em seguida tratados com hormonios sexuais, retirando-se no fim de 30 a 83 dias os orgãos enxertados e os contralaterais conservados "*in loco*" para o estudo comparativo "*in vitro*". Dada a identidade do comportamento farmacologico, as experiencias efetuadas permitem deduzir que a regulação da contratilidade e da excitabilidade farmacologica dos orgãos genitais accessorios masculinos do rato e do cobaio é sobretudo periferica, isto é, exercida diretamente sobre os orgãos efetuadores. Si os centros nervosos genitais têm alguma interferencia nos fenomenos estudados, esta não é de importancia primordial.

MORPHOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE STUDIEN ÜBER DIE VERPFLANZTEN AKZESSORISCHEN GENITALORGANE VON RATTEN UND MEERSCHWEINCHEN IN VERSCHIEDENEN HORMONALEN ZUSTÄNDEN

Das Problem der Kontraktilität der männlichen akzessorischen Genitalorgane und ihre hormonale Kontrolle ist der Gegenstand verschiedener Arbeiten dieses Laboratoriums gewesen. Die Erregbarkeit der Organe kastrierter Ratten ist stärker als die der normalen. Durch Oestradiol-Behandlung wird sie noch verstärkt. Bei den Meerschweinchen scheint der Einfluss der Sexualhormone nicht so deutlich zu sein, aber das Adrenalin "in vitro" ruft bei Organen Testosteron-kastrierter Tiere Kontraktion, und bei Oestradiol-kastrierter Erschlaffung hervor. Um diese hormonale Kontrolle gründlicher zu analysieren, versuchten wir das pharmakologische Verhalten "in vitro" der Genitalorgane von Ratten und Meerschweinchen, welche in die Abdominalwand oder in den Magen verpflanzt worden waren. Es wurden 21 Ratten von 110-240 g und 30 Meerschweinchen von 450-700 g operiert. Bei den Ratten wurde der Samenleiter und die Samenblase mit dem Kraniallappen der Prostata und bei den Meerschweinchen der Samenleiter und das distale Drittel der Samenblase verpflanzt. Die Hormonbehandlung bestand in subcutanen njektionen alle 4-6 Tage von 5-10 mg Testosteronpropionat und 0.5-1 mg Oestradiolbenzoat.



Zum morphologischen und funktionellen Studium wurden die Organe 30 bis 83 Tage nach der Verpflanzung exstirpiert. Als Versuchstiere dienten 16 Ratten: 2 einseitig kastrierte, 5 kastrierte, 5 kastrierte mit Testosteronpropionat behandelte, 4 kastrierte mit Oestradiolbenzoat eingespritzte und 10 Meerschweinchen: 2 einseitig kastrierte, 4 kastrierte mit Testosteron behandelte und 4 kastrierte mit Oestradiol eingespritzte. Nach der makroskopischen Beobachtung und der Entfernung eines Stückchens für die histologischen Präparate, wurden die Organe in eine Flasche mit Locke'scher Lösung. von 38°, mit Sauerstoff durchströmt, gebracht. Die Versuche wurden immer mit dem verpflanzten Organ und dem "in situ" in derselben Flasche und unter denselben myographischen Bedingungen ausgeführt. Die Längskontraktionen wurden mit Hilfe eines Schreibstiftes registriert, der im Verhältnis von 1 x 6 Vergrösserung aufzeichnete.

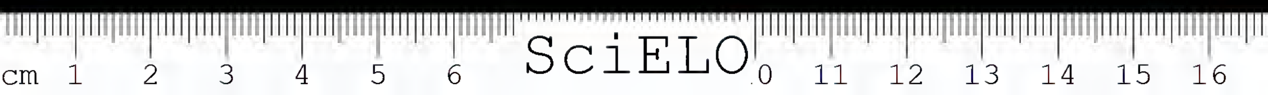
Dann wurde die Wirkung der verschiedenen Drogen wie Adrenalin, Acetylcholin, Pilokarpin, Ephedrin, Cocain und Bariumchlorid beobachtet. Das Verhalten der verpflanzten Organe war das Gleiche wie das der kontralateralen *in loco* gehaltenen. Zum Beispiel, in kastrierten Ratten oder Oestradiol-Kastraten ruft das Pilokarpin tonische und rhythmische Kontraktionen in verpflanzten, wie auch in Organen *in situ* hervor (Siehe Abb. 3). Dieselbe Droge ist wirkungslos in Organen von Testosteron-kastrierten Tieren (Siehe Abb. 4).

Bei Meerschweinchen war die Analyse der Effekte des Adrenalins am wichtigsten, denn bei dieser Tierart hat diese Droge wechselnde, von den hormonalen Bedingungen abhängende Wirkung. Auf die Samenleiter und Samenblasen von normalen, kastrierten oder Testosteron-kastrierten Meerschwenchen bewirkt das Adrenalin Kontraktionen. Auf Oestradiol-behandelte jedoch hat diese Drogue hemmenden Effekt. Unter denselben Bedingungen wurde hemmende Wirkung des Adrenalins auch bei den verpflanzten Organen festgestellt (Siehe Abb. 6).

Aus unseren Versuchen konnten wir schliessen, dass der Einfluss der Sexualhormone auf die verpflanzten Genitalorgane derselbe ist wie auf die "in situ". Die hormonale Kontrolle der akzessorischen Genitalien scheint sich hauptsächlich direkt auf die Organe auszuüben. Wenn das Nervensystem dabei eine Rolle spielt, so hat diese keine überwiegende Wichtigkeit.

BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Influence de la castration sur la motilité du canal déférent du rat — C. R. Soc. Biol. **127**:464.1938.
2. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Pharmacologie comparée des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro", de rats normaux et de rats castrés — C. R. Soc. Biol. **127**:1381.1938.



3. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porta, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro" de rats castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **127**:1385.1938.

4. *Martins, Thales & Porta, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales après conservation a base température de rats normaux, castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **127**:1389.1938.

5. *Martins, Thales* — Contractilité et pharmacologie comparée "in vitro" de la prostate de rats normaux et de rats chatrés et injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **129**:71.1938.

6. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Action de la spérmine et de la yohimbine sur la contractilité "in vitro" des glandes annexes males de rats, des cobayes et des singes *Cebus* et *rhesus* — C. R. Soc. Biol. **129**:1129.1938.

7. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porta, Ananias* — Nouvelles données sur la pharmacologie "in vitro" des canaux déférents, des vésicules séminales et des prostates de rats normaux, castrés ou injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **129**:1148.1938.

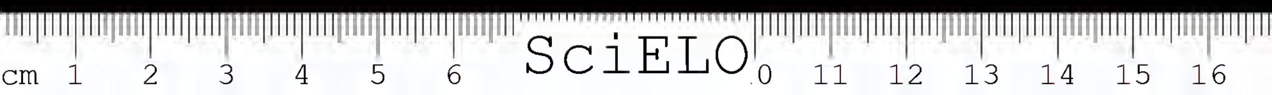
8. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porta, Ananias* — Neure Ergebnisse über die Pharmakologie von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exp. Medizin **105**:512-520.1939.

9. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — Endocrinology **25**:80-90.1939.

10. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Contractilité et pharmacologie "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales des cobayes normaux et castrés — C. R. Soc. Biol. **131**:302.1939.

11. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Influence des hormones sexuelles sur le comportement "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales du cobaye — C. R. Soc. Biol. **131**:306.1939.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Reimpressão com acrescimos do trabalho *in* Rev. Biol. e Hygiene *10* (2): 156-163.1940).


SciELO

612.617

CONTRATILIDADE "IN VITRO" DE CANAIS DEFERENTES, VESICULAS SEMINAIS E PROSTATAS DE RATOS CASTRADOS E INJETADOS SIMULTANEAMENTE COM PROPIONATO DE TESTOSTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL

POR

THALES MATINS; ANANIAS PORTO & JOSÉ R. VALLE

INTRODUÇÃO

A regulação hormonal da contratilidade e da excitabilidade farmacologica da musculatura lisa genital masculina de ratos, macacos *rhesus*, gatos e cobaios, tem sido objeto de varias publicações deste Laboratorio (1-8). Além dos efeitos funcionais bem conhecidos para a genitalia feminina (ação das substancias estrogenicas sobre a motilidade uterina, dessensibilização do utero à pituitrina pela progesterona, etc.) vimos que os hormonios sexuais exercem um papel importante na motilidade da genitalia masculina.

As ações inibidora da testosterona e excitadora do estradiol são facilmente demonstradas "in vitro", utilizando, por exemplo, canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos em diversas condições hormonais. Com a tecnica bastante conhecida de imersão em banho oxigenado e aquecido de Locke, mas estudando ao mesmo tempo o comportamento de 2 a 3 orgãos de doadores com passado hormonal diferente, pudemos analisar não só a motilidade espontanea, mas ainda o efeito de varias drogas e o tipo de resposta obtida.

Os orgãos genitais acessorios provenientes de ratos normais ou castrados tratados com propionato de testosterona não apresentam automatismo e são pouco excitaveis; ao contrario, os orgãos de doadores castrados ou de castrados injetados com benzoato de estradiol têm movimentos espontaneos e são bem excitaveis pelas drogas de emprego corrente, sobretudo pelas chamadas parasimpaticomimeticas. Interessante que as diferenças de comportamento não são apenas de ordem quan-

titativa e sim tambem qualitativas. As respostas dos orgãos de doadores normais ou de castrados tratados com as substancias androgenicas são do tipo tonico ou, então, tonico com oscilações ritmicas; já nos orgãos de castrados ou tratados com as substancias estrogenicas domina o tipo ritmico. Ha mesmo drogas que, como a pilocarpina, são excitantes sobretudo de orgãos provenientes de ratos castrados ou, melhor ainda, de ratos que receberam o tratamento estrogenico.

Vimos que estas alterações funcionais de castração (automatismo, aumento da excitabilidade farmacologica, predominancia de resposta ritmica, aparecimento de reação a drogas normalmente inativas) são precoces, isto é, independentes das alterações morfologicas produzidas pela castração ou pelo tratamento hormonal (8).

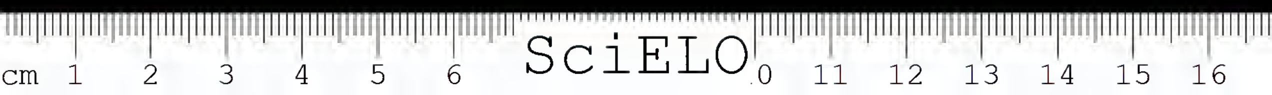
Diante dos dados que acabamos de resumir, seria interessante analisar o comportamento "in vitro" daqueles orgãos provenientes de animais tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol. Poder-se-ia, assim, verificar dentro das doses utilizadas o antagonismo entre os dois hormonios.

METODO

As conclusões deste nosso trabalho se baseiam no estudo comparativo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de grupos de ratos de 120 a 250 gs., castrados 10 a 31 dias antes e tratados ou com propionato de testosterona ou com benzoato de estradiol ou, então, simultaneamente com os dois hormonios (*). As injeções eram feitas subcutaneamente e repetidas com intervalos de 4 dias. No primeiro grupo os ratos recebiam de 0.25 a 4 mgs. *pro dosi* de propionato de testosterona; no segundo grupo a mesma dose de testosterona mais 0.2 a 5 mgs. de benzoato de estradiol; finalmente, os animais do terceiro grupo eram tratados somente com estradiol.

Depois de 2 a 6 injeções os ratos eram anestesiados com eter e os canais deferentes, vesiculas seminais e glandulas coaguladoras eram extirpados, desembaraçados dos tecidos adjacentes e levados para um frasco, contendo liquido de Locke aquecido e oxigenado. As condições experimentais foram as mesmas referidas nos nossos trabalhos anteriores. Repetimos que eram colocados no mesmo banho os orgãos de 2 a 3 ratos em condições hormonais diversas, realizando-se ao mesmo tempo, em 3 frascos, as experiencias com os deferentes, as vesiculas e as prostatas. Assim foi possivel o estudo comparativo do comportamento dos orgãos nas mesmas condições experimentais — temperatura e volu-

(*) Usamos nas nossas experiencias os hormonios *Testoviron* e *Progynon*, que a Casa Schering poz amavelmente à nossa disposição.



me do banho, concentração das drogas adicionadas, etc.. É obvio que as diferenças registadas correram por conta do passado hormonal dos doadores.

Foram estudados 21 deferentes, 21 vesiculas seminais e 17 prostatas de ratos castrados e tratados com testosterona; 30 deferentes, 30 vesiculas e 23 prostatas de ratos castrados e tratados simultaneamente com testosterona e estradiol; e 14 deferentes, 14 vesiculas e 12 prostatas de ratos injetados com estradiol.

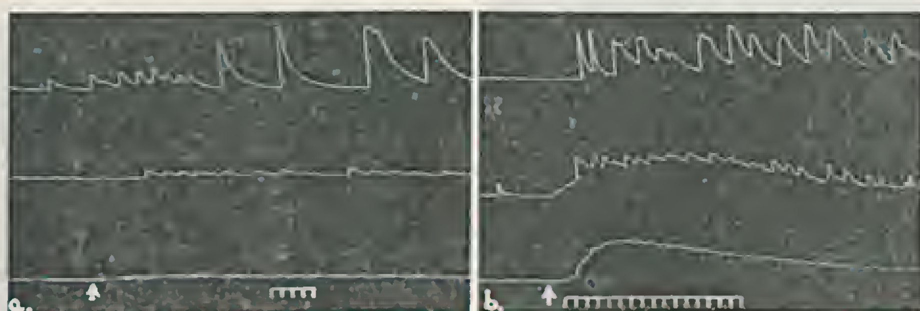


Fig. 1

Em cima: rato 246, tratado com estradiol (4 injeções de 0,5 mg.); *No meio*: rato 245, tratado com benzoato de estradiol (4 injeções de 0,5 mg.) e propionato de testosterona (4 injeções de 0.25 mg.); *Em baixo*: rato 244, tratado com propionato de testosterona (4 injeções de 0,25 mg.).

a) Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:60.000.

b) Cloridrato de cocaina a 1:30.000.

Em todas as figuras: Tempo 6 segundos.

Fig. 1

Canaux déférents de rat 15 jours après la castration. De haut en bas: rat 246 traité par le benzoate d'oestradiol (4 injections de 0,5 mg.), rat 245, traité par le b. d'oestradiol (4 inj. de 0,5 mg.) plus propionate de testostérone (4 inj. de 0,25 mg.); rat 244, traité par le p. de testostérone (4 inj. de 0,25 mg.).

a) Addition de chlorhydrate de pilocarpine (1:60.000).

b) Addition de chlorhydrate de cocaine (1:30.000).

Ligne de témps: 6 séconds.

De 30 a 60 minutos depois de levados para o frasco e depois das observações concernentes à motilidade espontanea dos orgãos, iniciavamos o exame das reações às seguintes drogas: adrenalina (1:500.000 - 1:2.000.000); acetilcolina (1:30.000 - 1:200.000); cocaina (1:12.500 - 1:50.000); pilocarpina (1:25.000 - 1:100.000); efedrina (1:16.000 - 1:50.000); nicotina (1:500.000); esparteina (1:10.000 - 1:30.000); cloreto de bario (1:50.000 - 1:120.000).

RESULTADOS

O comportamento dos orgãos provenientes de animais castrados tratados com um dos hormonios isoladamente foi o mesmo referido nos nossos trabalhos

anteriores e resumido na introdução. Já no grupo que recebeu tratamento misto, o tipo de resposta às drogas ensaiadas se modificou no sentido tonico, ritmico ou tonico-ritmico na dependencia das doses empregadas. Assim, para as doses maiores de testosterona (2 a 4 mgs.), o tratamento simultaneo com estradiol

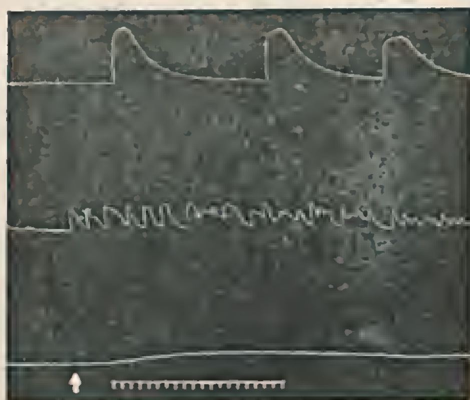


Fig. 2

Canais deferentes de ratos castrados de 19 dias. *Em cima*: rato 243, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.); *No meio*: rato 142, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 0,5 mg.) e propionato de testosterona (5 injeções de 0,5 mg.); *Em baixo*: rato 241, tratado com propionato de testosterona (5 injeções de 0,5 mg.). A flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:25.000.

Fig. 2

Canaux déférents de rat, 19 jours après la castration. De haut en bas: rat 243, traité par le benzoate d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 242, traité par le propionate de testosterone (5 injections de 0,5 mg.); plus b. d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 241 traité par le p. de testostérone (5 injections de 0,5 mg.). Addition du chlorhydrate d'ephédrine (1:25.000).

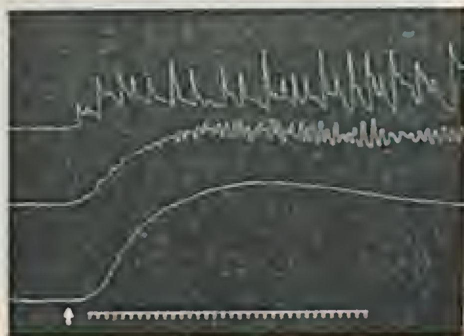


Fig. 3

Canais deferentes de ratos castrados de 22 dias. *Em cima*: rato 224, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.); *No meio*: rato 223, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.), com p. de testosterona (5 injeções de 2 mg.); *Em baixo*: rato 222, tratado com p. de testosterona (5 injeções de 2 mg.). Efeito do cloreto de bario (1:120.000).

Fig. 3

Canaux déférents de rat, 22 jours après la castration. De haut en bas: rat 224, traité par le benzoate d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 223, traité par le b. d'oestradiol (5 injections de 1 mg.) plus p. de testostérone (5 injections de 2 mg.); rat 222, traité par le p. de testostérone (5 injections de 2 mg.). La fleche signale l'addition au bain du clorure de baryum (1:120.000).

não modificou de maneira apreciavel o comportamento que foi do tipo normal. Já para as doses menores de propionato de testosterona (0.25 a 1 mg.), em bom numero de casos, os deferentes apresentaram maior excitabilidade farmacologica, predominando o tipo tonico-ritmico na resposta às drogas ensaiadas. Entre estas, a cocaina e a efedrina são as melhores para se analisar as diferenças de comportamento registadas nas condições experimentais que estamos estudando. Mesmo naqueles casos em que a reação às demais drogas era do tipo

tonico, a resposta à efedrina se apresentava do tipo ritmico ou, então, tonico com oscilações ritmicas.

A pilocarpina, quasi inativa sobre os orgãos de normais ou de castrados tratados com testosterona, e bom excitante dos orgãos provenientes de castrados e de castrados-estradiol, é tambem um bom reativo para as condições hormonais dos doadores que recebem tratamento misto. Nas nossas experiencias, 14 deferentes provenientes de animais tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol, responderam à adição de pilocarpina ao banho nutridor com contrações ritmicas em 11 casos. Nos orgãos provenientes de ratos tratados só com testosterona foram verificadas 10 reações fracas, sendo 6 do tipo tonico.

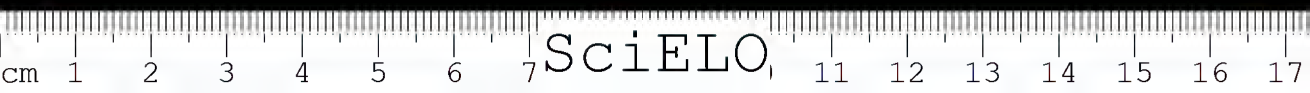
Quanto às vesiculas seminais e prostatas, não se verificou, com as doses hormonais utilizadas, uma diferença sensivel de comportamento entre os orgãos provenientes de animais tratados com a testosterona e aqueles cujos doadores receberam tratamento misto. Em muitos casos, mesmo, o tratamento simultaneo pareceu diminuir a excitabilidade dos orgãos mais do que o tratamento só pela testosterona. Entretanto, na serie de 33 ratos injetados com os dois hormonios, 4 apresentaram no fim do tratamento um estado permanente de turgescencia do penis, com a glande fóra do prepucio. Na literatura corrente este estado é frequentemente designado por priapismo.

Podemos concluir do que ficou relatado que, relativamente ao comportamento "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de ratos submetidos ao tratamento misto, isto é, recebendo simultaneamente a testosterona e o estradiol, desapareceram aquelas diferenças esquematicas que são observadas entre os orgãos de normais e castrados ou injetados com um dos dois hormonios isoladamente.

Nos animais castrados, tratados com doses fracas de testosterona, mas já ativas sobre a atrofia de castração, o tratamento simultaneo com o benzoato de estradiol póde anular parcialmente a ação do hormonio masculino sobre a contratilidade dos canais deferentes. Parece que o rato, no que respeita a contratilidade "in vitro" dos orgãos genitais acessorios, é relativamente mais sensivel à testosterona do que ao estradiol.

RESUMO

O estudo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de ratos tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol mostrou o desaparecimento, em grande numero de casos, das diferenças esquematicas observadas nos orgãos de normais e castrados ou de tratados com os dois



hormonios isoladamente. A ação antagonica do estradiol é menos nitida nas vesiculas seminais e prostatas do que nos canais deferentes. Dentro das condições experimentais referidas, o rato se mostrou relativamente mais sensivel à testosterona do que ao estradiol.

CONTRACTILITÉ "IN VITRO" DES CANAUX DÉFÉRENTS, DES VÉSICULES SÉMINALES ET DES PROSTATES DE RATS CHÂTRÉS ET INJECTÉS SIMULTANÉMENT AVEC DU PROPIONATE DE TESTOSTÉRONE ET DU BENZOATE D'OESTRADIOL

On a étudié dans des travaux antérieurs le comportement "in vitro" des canaux déférents, des vésicules séminales et des prostates de rats, macaques *rhesus* et chats, et il a été démontré que les hormones sexuelles ont un rôle important dans la régulation de la motilité de ces organes.

Les organes, provenant de rats châtrés ou de rats châtrés et traités au benzoate d'oestradiol, présentent des contractions spontanées "in vitro" et réagissent mieux aux drogues additionnées au bain de liquide de Locke, que les organes des animaux normaux traités par la testostérone. De plus, il existe des différences qualitatives dans le type de contraction; les réactions des animaux normaux ou traités par la testostérone sont de type tonique tandis que celle des animaux châtrés ou traités au benzoate d'oestradiol son rythmiques.

Dans ce travail, nous recherchons les effets de traitement mixte des animaux, afin de vérifier si le benzoate d'oestradiol a quelque action neutralizante de la testostérone.

Méthode: Après avoir châtré les rats d'un poids de 120 à 250 grammes, on commença le traitement avec des hormones dissous dans 0,5 ou 1 cc. d'huile de sésame, en injections sous-cutanées.

Les rats étaient toujours répartis par groupes de 2 ou 3, dans les mêmes conditions; dans chaque groupe, un animal prenait une dose déterminée de propionate de testostérone; un autre, la même dose de testostérone plus une dose de benzoate d'oestradiol; parfois un troisième rat recevait seulement la dose de benzoate d'oestradiol. Les injections, commencées le jour même de la castration, étaient répétées de 4 en 4 jours. Les doses de propionate de tsetostérone variaient, par injection, de 0,25 à 4 milligrammes, celles de benzoate d'oestradiol de 0,2 à 5 mgr. (*).

(*) Dans la série de 33 rats étudiés, 4 présentérent à la fin du traitement un état permanent de turgescence du penis, avec la glande hors du prépuce; dans la littérature courante cet état est fréquemment appelé priapisme. Il est intéressant de le noter, ces animaux étaient tous soumis au traitement mixte, c'est à dire traitement au propionate de testostérone plus le benzoate d'oestradiol.

On étudia 21 déférents, 21 vésicules et 17 prostates (lobe cranien) de rats châtrés et injectés avec du propionate de testostérone; 30 déférents, 30 vésicules séminales et 23 prostates de rats châtrés et traités au propionate de testostérone plus du benzoate d'oestradiol; et 14 déférents, 14 vésicules séminales et 12 prostates de rats châtres et traités au benzoate d'oestradiol.

De 10 à 31 jours après la castration, les organes étaient disséqués et mis dans un bain de liquide de Locke, dans les conditions décrites dans les travaux antérieures. On mettait toujours dans le même bain les organes de 2 ou 3 rats appartenant au même groupe expérimental.

On a étudié les effets de l'addition au bain des drogues suivantes: adrénaline (1:500.000 à 1:2.000.000); acétylcholine (1:30.000 à 1:200.000); cocaine (1:12.500 à 1:50.000); pilocarpine (1:25.000 à 1:100.000); éphédrine (1:16.000 à 1:50.000); nicotine (1:500.000); sparteine (1:10.000 à 1:30.000); baryum (1:50.000 à 1:120.000).

Résultats: Pour les doses plus grandes de testostérone, de 2 à 4 mgrs., le traitement simultané de benzoate d'oestradiol ne modifia pas d'une façon appréciable le comportement, qui fût du type normal.

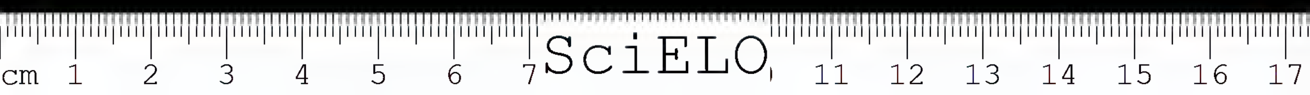
Pour les doses moindres de propionate de testostérone (0,25 a 1 mgr.) dans un bon nombre de cas, les déférents des rats soumis au traitement mixte ont montré une excitabilité plus grande aux drogues et une contraction de type mixte.

Lorsque les contractions n'étaient pas purement rythmiques comme chez les animaux châtrés ou traités seulement au benzoate d'oestradiol, on a constaté un effet tonique, mais avec des oscillations rythmiques.

Parmi les drogues essayées, l'éphédrine et la cocaine semblent les meilleurs pour révéler ces différences de comportement. Même dans les expériences où les réactions à d'autres drogues étaient de type tonique, la réponse à l'éphédrine, était dans la grande majorité des cas, chez les rats traités par la testostérone plus oestradiol, rythmique, ou tonique avec des oscillations rythmiques.

Un autre "réactif différentiel" est la pilocarpine qui, comme nous l'avons vu dans les travaux antérieurs, est un bon excitant des animaux châtrés ou traités par l'oestradiol et presque inactive sur les organes des normaux ou traités par la testostérone. 14 déférents, traités par la testostérone plus oestradiol présentèrent des contractions, après l'addition de cette drogue, dont 11 de type rythmique. Chez les animaux traités par la testostérone seulement, il se produisit 10 réactions faibles, dont 6 de type tonique.

Quant aux vésicules séminales et prostates on ne vérifia pas, avec les doses d'hormone employées, une difference sensible entre les animaux traités par la testostérone et les traités par la testostérone plus benzoate d'oestradiol. En de



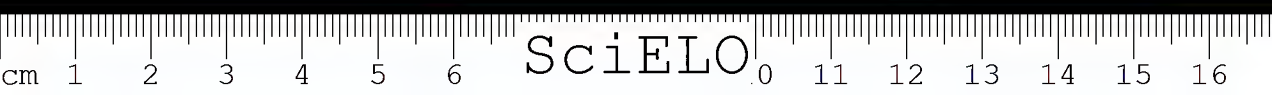
nombreux cas l'excitabilité, chez les animaux soumis au traitement mixte, semblait même moindre, et le type de contraction plus proche du normal, que chez les animaux traités seulement par la testostérone.

De la vue d'ensemble des effets des diverses drogues essayées, nous pouvons conclure qeu, chez les animaux traités avec des doses faibles de propionate de testostérone, déjà proches du seuil actif sur l'atrophie de castration, le traitement simultané au benzoate d'oestradiol peut annuler partiellement l'action de l'hormone masculine sur la contractilité des canaux déférents. Mais ce n'est pas un résultat constant et il est loin des différences schématiques, que nous avons décrites, entre animaux normaux, châtrés, et châtrés injectés seulement avec une des hormones cités. Il semble que le rat, pour ce qui concerne la contractilité "in vitro" des organes génitaux accessoires, est relativement plus sensible a la testostérone qu'au oestradiol.

BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of male accessory genital organs — Endocrinology **25**:80.1939.
2. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Neure Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exper. Medizin **105**:512.1939.
3. *Porto, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques "in vivo" des canaux déférents et des vésicules séminales du rat castré et traité par des hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. **131**:311.1939.
4. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Die endokrine Kontrolle der Motilität der männlichen akzessorischen Genitalorgane. Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter und Samenblasen von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Rhesusaffen — Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. des Menschen u. d. Tiere **242**:134.1939.
5. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter normaler, kastrierter und mit Sexualhormonen behandelter Katzen — Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **243**(3):243.1940.
6. *Valle, José R.* — Farmacologia do canal deferente e da vesicula seminal do cobaio (Papel dos hormonios sexuais) — S. Paulo, 1939.
7. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Estudo morfologico e funcional de enxertos de orgãos genitais accessorios de ratos e cobaios em diferentes condições hormonais — Rev. Biol. e Higiene de S. Paulo (em impressão).
8. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Sobre a duração do tratamento necessario para que os hormonios sexuais influam sobre a contratilidade "in vitro" dos canais deferentes e das vesiculas seminais de ratos castrados — Memorias Inst. Butantan **14**: .1940.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).



612.3144

PODER ANAGOTOXICO DAS AGUAS DE SÃO PEDRO SOBRE ALGUNS VENENOS OFIDICOS

POR

FAVORINO PRADO JUNIOR & J. B. ARANTES

Nestes ultimos anos, os hidrologos têm posto em evidencia as propriedades especificas de certas aguas minerais. Para alguns parece ser de natureza catalitica, tal é a ação alterante das aguas de Vichy sobre a agua oxigenada, assinalada, em 1911, por Glénard, e ativação das diastases, sob o nome de poder zimostenico, estudado por Loeper, Mougeot & Aubertot (6).

Certos toxicos de constituição quimica desconhecida ou quasi desconhecida, como as toxinas, venenos vegetais, alcaloidicos, podem ser transformados em compostos quimicos desprovidos completamente de toxicidade.

Billard (1) assinalou o nitido poder inativante *"in vitro"* das aguas de Chatel-Guyon, sobre o veneno de vibora. Em mais de 20 provas realizadas sobre as aguas d'Auvergne, esse autor observou nitido poder anagotoxico sobre diversos venenos.

Perrin & Cuénot (9) mostraram o poder anagotoxico das aguas de Bussang (fontes "Grande Salmade" e "Petite Salmade") sobre o sulfato de esparteina. Usando como animal reativo as larvas de *Culex*, esses autores verificaram o poder anagotoxico das aguas de "La Bourboule" em face da picrotoxina, bem como as aguas de Bussang e de numerosas fontes de Vichy.

Entre nós, Vital Brazil (16), trabalhando com as aguas de Poços de Caldas, Pocinhos do Rio Verde e Lambarí, demonstrou indiscutivel poder anagotoxico dessas aguas, em face da peçonha da Cascavel (*Crotalus terrificus*) *"in vivo"*, sobre o organismo do pombo e sobre a toxina difterica.

Diante de um fenomeno assim geral, procura-se uma explicação satisfatoria.

Violle & Giberton (15) foram os primeiros a demonstrar experimentalmente, que o poder anagotoxico duma agua mineral é atribuido unicamente a certos sais que nela estão dissolvidos. A radioatividade e o estado coloidal não têm nenhuma qualidade antagonica propria. Numa agua com poder anago-

toxico, pode-se colocar sempre em evidencia um ou muitos sais que lhe conferem esse poder.

Assim é que Violle & Giberton revelaram o poder anagotoxico do cloreto de calcio em face dos sais de cobre e do sulfato de esparteina.

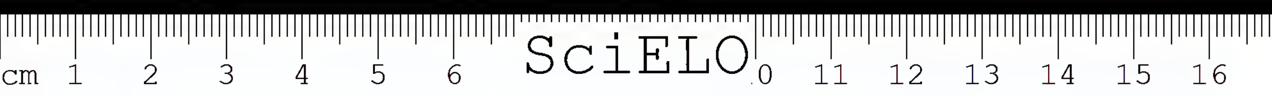
Perrin & Cuénot mostraram a atividade dos bicarbonatos de ferro, de magnesio e de calcio, que contem as aguas de Bussang, em face do sulfato de esparteina; do carbonato de magnesio, que existe na maior parte das aguas alcalinas, sobre a picrotoxina.

Como agirá a agua para proteger o organismo contra esses toxicos, é um problema somente resolvido por inumeras hipoteses empiricas. Cremos que, futuramente, desse empirismo sairá a solução definitiva dessa ação misteriosa das aguas minerais, haja visto as palavras de Claude Bernard: "Dans sa marche à travers les siècles, la médicine, constanment forcée d'agir, a tenté d'innombrables essais dans le domaine de l'empirisme et en a tiré d'utiles enseignements".

Billard (2) que utilizou sobretudo toxicos de composição quimica complexa ou mesmo desconhecida, atribue toda atividade das aguas anagotoxicas a certos ions livres do complexo eletrolitico hidromineral. Pensa ele, que esses ions, mais rapidamente difusiveis que o toxico ao qual está misturado, se fixam eletivamente sobre os orgãos sensiveis, tornando-os refratarios à impregnação toxica posterior. Para Billard, o toxico de nenhum modo é alterado pela adição dum 'eletrolito anagotoxico.

Baseado em novas experiencias, Perrin & Cuénot, em 1930, emitiram uma hipotese em contrario. Para eles, o poder anagotoxico seria resultado de uma reação quimica, mais ou menos nitida, duma ação reciproca do eletrolito ativo sobre o toxico correspondente, com a produção dum corpo novo, seja soluvel e atoxico ou seja toxico, mas insoluvel. Em favor de sua teoria, esses autores citam o fato das aguas bicarbonatadas serem anagotoxicas para uma solução acida, havendo formação de um corpo novo, um sulfato, por exemplo, com abaixamento de taxa acidimetrica por desprendimento de gas carbonico. Em aguas minerais com poder anagotoxico minimo ou nulo, o toxico é transformado em um corpo novo, menos toxico, ou é transformado somente em parte.

Verificou Billard que, certas substancias consideradas toxicas, podem, em certas ocasiões, funcionar como anagotoxicas. É o caso do sulfato de esparteina, que em dose toxica, misturado *"in vitro"* com o veneno de *Vipera aspis*, em vez de reforçar sua ação, tem um nitido poder anagotoxico. Segundo Marie Phisalix (7), o veneno de *Vipera*, inoculado sob a pele na dose de 0.5 a 1 miligrama, determina a morte de uma cobaia em menos de 10 horas. Doses muito superiores a essas, misturadas *"in vitro"* com o sulfato de esparteina, são inocuas. J. Weill explica esse fenomeno, atribuindo à esparteina, que é um veneno curarizante, um aumento da cronaxia muscular.



Em suma, para Perrin & Cuénot, o poder anagotoxico é um fenomeno quimico extremamente geral; os produtos atoxicos originados são do mesmo tipo que a anatoxina de Ramon, formada pela associação formol-toxina; ou semelhante à criptotoxina de Vincent, obtida pelo contacto prolongado da toxina com o palmitato de sodio. Havendo aguas minerais anagotoxicas da toxina tetanica, da toxina difterica, da falina, do veneno de *Vipera*, deve-se deduzir, que nessas aguas existem sais minerais antidotos quimicos desses toxicos.

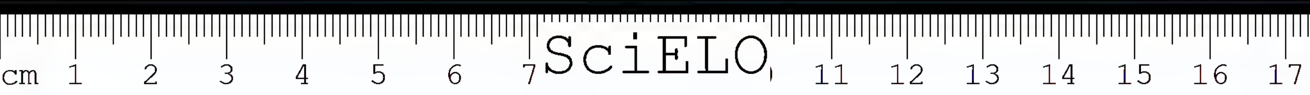
Leon Binet, Georges Weller & Eugène Robillard (4), constataram o poder anagotoxico do glutation e compostos sulfidrilados, em face do veneno de *Cobra*, chegando as cobaias a suportar até 50 doses mortais de veneno, quando misturados a esses elementos. Explicam esses autores o modo de ação dos compostos sulfidrilados sobre o veneno de *Cobra*, dizendo que o glutation e esses compostos agem como redutores, transformando os grupamentos — SS — do veneno em grupamentos — SH.

Maurice Renaud (11) mostrou, em seus trabalhos, que o veneno de *Cobra* forma, com as soluções coloidais de sabões (seja oleato de sodio, seja palmitato de sodio), complexos nos quais a toxicidade se atenua rapidamente e acaba por desaparecer ao fim de certo tempo, suportando os animais injeções até 60 DML de veneno. Esses complexos veneno-sabões, desprovidos de toxicidade, guardam seu poder antigenico especifico. A neutralização do veneno de *Cobra* pelos sabões necessita um contacto prolongado de 4 a 6 horas, em uma solução pouco concentrada. Netter, Thomas & Freser constataram a ação antivenenosa da bile sobre o veneno de *Cobra*, explicando a sua ação pela formação de sabões, daí a inocuidade do veneno por via digestiva (12-13).

Pelo exposto, verifica-se a dificuldade que existe em saber, qual o ion ou grupo de ions que têm um poder neutralizante sobre um determinado veneno, e como será essa ação. Devemos ter sempre em mente as palavras de Mouriquand, Michel & Milhaud (8), que afirmam, não dever nunca relacionar as propriedades de uma agua mineral, unicamente aos elementos minerais que ela encerra.

Temos hoje a firme convicção de que não existe um veneno de origem organica para o qual não se possa encontrar uma agua mineral capaz de inativá-lo (Billard).

Principio aceito por todos pesquisadores é o de que uma agua mineral pode ser nitidamente anagotoxica para um determinado veneno e não ser para outro. Esse fato foi confirmado por Billard com varias aguas. As aguas de "La Bourbole" são anagotoxicas para a toxina tetanica e não são para outras toxinas; a de "Saint-Nectaire" são anagotoxicas para a toxina difterica e as de "Mont-Dore" para o sulfato de esparteina.



Um de nós teve ocasião de verificar o mesmo com as aguas minero-medicinais de São Pedro. A agua da fonte "Gioconda" mostrou nitido papel protetor em presença da picrotoxina (10), enquanto que as aguas das fontes "Juventude" e "Almeida Salles" se mostraram anagotoxicas em face da toxina tetanica (3).

É necessario ter-se cuidado na prescrição das aguas minerais, porque não sabemos dizer qual o grupo de aguas que terão um poder anagotoxico e qual será o grau desse poder. Mesmo após longas experiencias, determinada a fonte que suprime a ação de certo toxico, estamos longe de saber qual é o eletrolito inativante e qual o ion que tem ação. Assim, em face de uma determinada molestia, é necessario verificar si a agua a ser usada tem um poder anagotoxico, pois, muitas vezes, elas possuem um terrivel poder agotoxico (aumenta a toxicidade).

Com o fim de pesquisar o poder anagotoxico das aguas de São Pedro sobre diversos venenos ofidicos, utilizamos como animal reativo o pombo, por ser muito sensivel ao veneno e de uma sensibilidade constante, motivo pelo qual é este animal utilizado para o doseamento de soro ofidico neste Instituto. Os pombos usados, com um peso constante (mais ou menos 300 gs.), eram injetados por via venosa, com a mistura veneno + agua mineral, depois de permanecer em contacto por 30 minutos à temperatura de 37 graus centigrados. Usamos uma tecnica contraria à de Billard, quando estudou a ação do veneno de *Vipera* misturado com agua mineral de Chatel-Guyon. Êsse autor usava a via peritoneal, e cobaias de pêsos variaveis.

As aguas minerais usadas por nós não tinham mais de 48 horas de colhidas na fonte, pois as aguas muito envelhecidas perdem seu poder anagotoxico. Vital Brazil verificou com as aguas do Rio Verde, que estas perdem seu poder anagotoxico após 9 dias de colhidas na fonte.

Dividimos nossas experiencias em duas series. Numa, usamos o veneno de Cascavel (veneno crotalico), e na outra, o veneno de Jararaca (veneno botropico).

Primeira serie: O veneno de Cascavel (*Crotalus terrificus*) usado tem como dose minima letal (DML) 0.0015 de miligramos (DML é a dose que mata um pombo de 300 gs. em 24 horas). Numa primeira parte injetamos 4 DML (0,006 de mgs.) para cada grupo de 3 fontes, bem como para as testemunhas, feitas com agua potavel e soro fisiologico. Numa segunda parte, injetamos 2 DML (0,003 de mgs.) nas mesmas condições que na primeira parte. Tanto para as testemunhas, como para as aguas em experiencia, misturamos "*in vitro*" a dose de veneno diluido em 1 cc. de soro fisiologico com 1 cc. da agua em estudo, que permanecia em contacto por 30 minutos a 37 graus centigrados.

RESUMO DAS EXPERIENCIAS COM O VENENO CROTALICO

No. do pombo	Peso em gs.	Dose em mgs.	Tempo 1.° sintomas em horas	Tempo da paralisia em horas	Tempo da morte.	Aguas usadas
88	286	0,006	1,11'	1,18'	2,49'	Fonte "Gioconda"
89	302	0,006	2,11'	2,37'	após 3hs.	Fonte "Juventude"
90	312	0,006	1,25'	1,39'	" "	Fonte "Alm. Salles"
91	320	0,006	0,49'	0,55'	2,8'	Test. soro fisiol.
92	300	0,006	1,8'	1,15'	2,20'	Test. agua potav.
93	335	0,003	1,52'	2,32'	3,30'	Fonte "Gioconda"
94	326	0,003	—	—	Sobrev.	Fonte "Juventude"
95	327	0,003	3,13'	3,33'	após 4hs.	Fonte "Alm. Salles"
96	335	0,003	1,45'	2,24'	" "	Test. soro fisiol.
97	311	0,003	2,9'	2,22'	" "	Test. agua potav.

No quadro acima, a 3.ª coluna indica a dose recebida pelo pombo, em miligramos (0,006 de mgs. correspondente a 4 DML, e 0,003 de miligramo correspondente a 2 DML); a 4.ª coluna indica o tempo decorrido entre a injeção veneno + agua e o aparecimento dos primeiros sintomas; a coluna seguinte nos dá o tempo entre a injeção do veneno e o aparecimento da paralisia; finalmente, a 6.ª coluna indica o tempo decorrido entre a injeção e a morte do pombo.

Observamos que com 4 DML (0,006 de mgs.), o pombo injetado com a mistura veneno+agua da fonte "Juventude" foi o que mais resistiu, só morrendo após 3 horas de injetado. Depois da fonte "Juventude", a fonte "Almeida Salles" foi a que apresentou maior poder anagotoxico em face do veneno crotalico. O pombo injetado com essa agua seguramente morreu primeiro que o pombo injetado com a agua da fonte Juventude, pois os fenomenos paraliticos apareceram muito antes. Com 2 DML (0,003 de mgs.), o pombo injetado com veneno+agua da fonte "Juventude", não apresentou sintomas. Nas testemunhas, os fenomenos paraliticos se manifestaram mais cedo, tendo esses pombos seguramente morrido antes do pombo injetado com a agua da fonte "Almeida Salles".

Segunda serie: Usamos o veneno botropico (*Bothrops jararaca*), cuja dose minima letal é de 0,030 de miligramos (dose que mata um pombo de 300 gs. mais ou menos em 20 minutos). Nessa segunda serie, como na primeira,

usamos os mesmos metodos de diluição e de injeção. Os pombos foram injetados com 2 DML (0m060) e com 1,5 DML (0m045). O resultado obtido foi o seguinte:

No. do pombo	Peso em gs.	Dose em mgs.	Tempo 1.º sintomas em minutos	Tempo de morte em minutos	Aguas usadas
8	307	0,060	2'	4'	Fonte "Gioconda"
9	314	0,060	16'	22'	Fonte "Juventude"
12	322	0,060	7'	10'	Fonte "Alm. Salles"
10	280	0,060	3'	5'	Test. c/sôro fisiologico
11	276	0,060	imediatos	3'	Test. c/agua potavel.

Observamos que com 2 DML os pombos injetados com a agua da fonte "Juventude" foram os que mais resistiram, passando de 20', tempo em que se considera a dose minima letal para o veneno botropico. Repetimos essas mesmas experiencias, com os mesmos metodos, usando 1,5 DML (0,045 de mgs.) tendo o pombo injetado com a mistura veneno+agua sulfurosa (fonte "Juventude"), suportado muito bem, sem qualquer sintoma.

Ensaios iniciados por nós, com o veneno da coral (*Micrurus corallinus*), demonstraram tambem um nitido poder anagotoxico da fonte "Juventude", e em segundo plano, da fonte "Almeida Salles".

Fato comprovado por varios pesquisadores, entre nós por Vital Brazil, é o de que, à medida que a agua mineral envelhece, perde seu poder anagotoxico. As aguas por nós usadas não tinham mais do que 48 horas de colhidas. Para provar esse fato, deixamos envelhecer na geladeira, pelo espaço de 10 dias, uma garrafa de agua da fonte "Juventude". Findo esse prazo, a agua perdia seu cheiro sulfidrico caracteristico e sua côr. Com a mesma tecnica, usada anteriormente nos outros experimentos, injetamos um pombo de 313 gs. com uma mistura dessa agua, mais 0m003 (2 DML) de veneno crotalico. Após 1h.30' de injetado, o pombo apresentou paralisia, morrendo após 2 hs. 13' de injetado, o que prova ter a agua perdido todo poder anagotoxico. Com essa mesma dose, e com agua nova, o pombo não apresentou sintomas.

Ao que atribuir o papel protetor da agua mineral, sobre esses venenos ofidicos. Cada hidrologo interpretaria esse poder por um prisma diferente, baseado em suas teorias.

Billard acharia que os ions do complexo eletrolitico hidromineral, mais difusivel do que o veneno, se fixariam eletivamente sobre os orgãos sensiveis e os tornariam refratarios à impregnação posterior do veneno.

Perrin & Cuénot atribuiriam essa ação a uma reação quimica do eletrolito ativo sobre o veneno, com a produção de um corpo novo soluvel e atoxico ou de um corpo toxico, mas insoluvel.

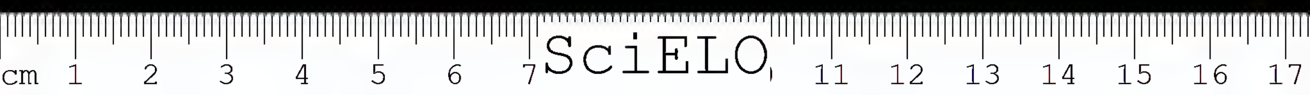
Para Renaud haveria a formação de sabões com a agua mineral que inativaria o veneno.

Binet, Weller & Robillard achariam que os compostos sulfidrilados da agua sulfurosa da fonte "Juventude", agiriam como redutores, transformando os grupamentos — SS — do veneno em grupamentos — SH. Esta interpretação assemelha-se aos trabalhos de Slotta & Fraenkel-Conrat, que, trabalhando com a neurotoxina do veneno crotalico, assinalaram a presença e a importancia dos grupamentos — SS — na molecula da neurotoxina.

De todas as hipoteses, nos parece mais razoavel atribuir esse poder anagotoxico a um fenomeno de oxido-redução do veneno, pelos compostos sulfidrilados da agua mineral, hipotese já bem discutida por um de nós e Büller Souto, explicando a ação inativante dessa mesma fonte sobre a toxina tetanica (3).

CONCLUSÕES

1. A agua alcalino-sulfurosa da fonte "Juventude" de São Pedro revelou poder anagotoxico em relação ao veneno de Cascavel (*Crotalus terrificus*), de Jararaca (*Bothrops jararaca*), e ao de Coral (*Micrurus corallinus*).
2. O pombo injetado com uma mistura feita *"in vitro"* de 1 cc. de veneno diluido em soro fisiologico, mais 1 cc. de agua da fonte "Juventude", suportou 2 DML de veneno crotalico e 1,5 DML de veneno botropico.
3. Os pombos injetados com 4 DML de veneno crotalico e 2 DML de veneno botropico, mais 1 cc. de agua da fonte "Juventude", resistiram por mais tempo que as testemunhas.
4. Esse efeito parece ocorrer por conta de um fenomeno de oxido-redução do veneno, pelos compostos sulfidrilados da agua.
5. A agua da fonte "Juventude", após o envelhecimento por 10 dias, tendo perdido sua côr e cheiro caracteristico, não protegeu o pombo injetado com 2 DML de veneno crotalico. Depois de envelhecida a agua perde seu poder anagotoxico.
6. A agua cloro-bicarbonatada-sodica da fonte "Almeida Salles" apresentou fraco poder anagotoxico sobre os venenos ofidicos experimentados.
7. A agua cloro-sulfatada-sodica da fonte "Gioconda" é destituida de poder anagotoxico sobre os venenos experimentados.



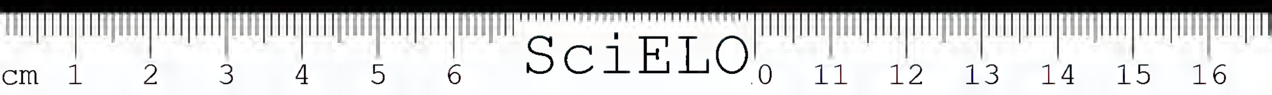
8. As aguas minerais em experiencia eram utilizadas até 48 horas depois de colhidas na fonte.

CONCLUSIONS

1. The alcaline-sulphurous water of the fountain "Juventude", in São Pedro, seems to show a distinct anagotoxic power in regard to the venom of the rattlesnake (*Crotalus terrificus*), of *Bothrops jararaca* and of *Micrurus corallinus.*
2. The pigeon injected with a mixture prepared *in vitro* with 1 cc. of venom diluted in saline, and 1 cc. of water of the fountain "Juventude", resisted to 2 DML of the venom of *Crotalus terrificus* and to 1.5 DML of the venom of *Bothrops jararaca.*
3. The pigeons injected with 4 DML of crotalic venom, 2 DML of bothropic venom and 1 cc. of the water of the fountain "Juventude" survived longer than the test animals.
4. This effect seems to be due to a oxydo-reduction phenomenon of the venom, caused by the sulphidrilated compounds of the water.
5. The water of the fountain "Juventude", after standing for 10 days and consequently loosing its colour and characteristic odor, has not protected a pigeon injected with 2 DML of crotalic venom. After standing the water looses its anagotoxic power.
6. The chloric-bicarbonated-sodaic water of the fountain "Almeida Salles" seems to present weak anagotoxic power in regard to the examined ophidic venoms.
7. The chloric-sulphurated-sodaic water of the "Gioconda" fountain is destituted of anagotoxic power against the examined venoms.
8. The mineral waters under experience were used within 48 hours after having been collected at the fountain.

BIBLIOGRAFIA

1. *Billard, G.* — Pouvoir anagotoxique de eaux de Chatel-Guyon sur le venin de vipère — C. R. Soc. Biol. 94:1140.1926.
2. *Billard, G.* — Pouvoir anagotoxique des quelques eaux minérales d'Auvergne sur certaines neurotoxines — Presse Médicale 35:113.1927.
3. *Büller Souto, A. & Prado Junior, F.* — Poder anagotoxico das aguas de São Pedro sobre a toxina tetanica — II.° Congr. Nac. de Hidro-Climatismo, 1940.



4. *Binet, L.; Weller, G. & Robillard, E.* — Nouvelles expériences concernant l'action exercée "*in vitro*" sur le venin, de *Cobra*, par le glutathion et quelques composés sulphydrilès — C. R. Soc. Biol. **131**:954.1939.

5. *Chaves, B.* — Aguas de Lambari :29.1932.

6. *Loeper, M.; Mougeot A. & Aubertot, V.* — Le pouvoir zymosthènique des eaux minèrales — Presse Médicale **35**:241.1927.

7. *Phisalix, Marie* — Animaux Venimeux et venins — Masson & Cie. **2**:547.1922.

8. *Mouriquand, G.; Michel, P. & Milhaud* — Action comparée de l'eau de Vichy (Grande Grille) et d'une solution bicarbonatée equivalente sur le cobaye carencé — C. R. Soc. Biol. **94**:65.1926.

9. *Perrin, M. & Cuénot, A.* — La larve de *Culex*, réactif biologique. Mésure du pouvoir anagotoxique — Paris Médical **87**:317.1933.

10. *Prado Junior, F.* — Poder anagotoxico das aguas de São Pedro, em face da picrotoxina — II.º Congresso Nac. de Hidro-Climatismo, 1940 *et* Brasil Medico **54**: 716.1940.

11. *Renaud, M.* — Immunisation contre le venin de *Cobra* par les complèxes venin-savons — C. R. Soc. Biol. **103**:143.1930.

12. *Renaud, M.* — Pouvoir neutralizant des savons sur le venin de *Cobra* — C. R. Soc. Biol. **99**:496.1928.

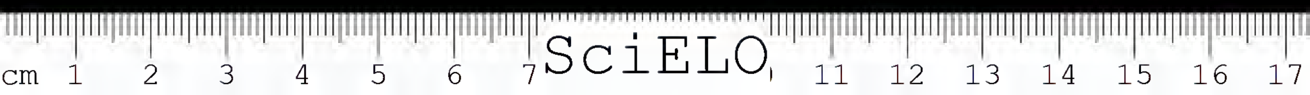
13. *Renaud, M.* — Savons et venin de *Cobra* — Bull. Inst. Pasteur **26**:1114.1928.

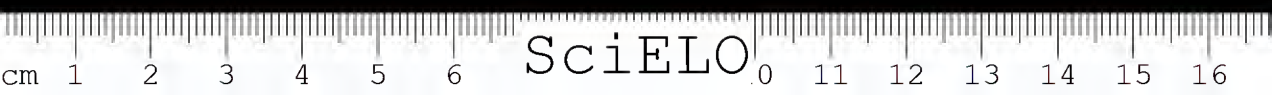
14. *Souza Lopes, Renato* — Aguas minerais do Brasil — Edit. Livr. Francisco Alves, 1931.

15. *Violle, P. L. & Giberton,* A. — Les eaux minérales milieux antitoxiques — Presse Médicale **37**:943.1929.

16. *Brazil, Vital* cit. por *Souza Lopes* (14) e *Benicio Chaves* (5).

(Trabalho da Secção de Imunologia do Instituto Butantan. Apresentado ao II.º Congresso Nac. de Hidro-climatismo e dado à publicidade em dezembro de 1940).




SciELO

612.3144

A INFLUENCIA DA TEMPERATURA SOBRE OS PRINCIPIOS TOXICO, COAGULANTE E PROTEOLITICO DO VENENO DA *BOTHROPS JARARACA*

POR

LAURA C. TABORDA

Ao iniciarmos algumas experiencias em torno da separação dos principios toxico, coagulante e proteolitico do veneno da *Bothrops jararaca* deparamos com varias divergencias entre os nossos resultados e os de alguns outros pesquisadores no tocante à ação da temperatura sobre este veneno.

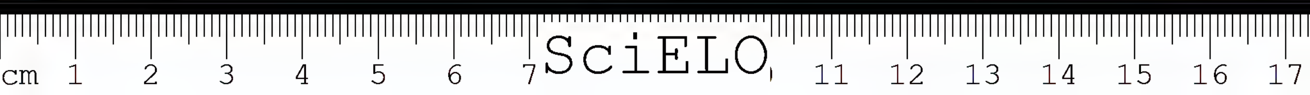
Assim é que ao se referir a ação do calor sobre as soluções de veneno em face da sua atividade toxica, diz Calmette (1), que os venenos de *Lachesis* (hoje *Bothrops*) já seriam atenuados à temperatura de 65° C, embora dependendo esta atenuação do tempo de aquecimento e que por aquecimento a 70°C perdia a ação dissolvente sobre a gelatina e a fibrina.

Houssay, Sordelli e Negrete (2) afirmam que os venenos de diversas cobras, dentre as quais o da *Bothrops jararaca* (*L. lanceolatus*), diminuem subitamente suas atividades toxica, coagulante e lipolitica entre 60 e 70°C, dependendo da especie e que por aquecimento a 80° ou 90°C reaparecem as propriedades do veneno, embora atenuadas. Segundo Noc (3), o aquecimento a 80°C durante 30' em tubo fechado, destroe o poder proteolitico do veneno da *Bothrops jararaca* bem como de outros venenos.

Vital Brazil e Rangel Pestana (4), no estudo da ação do calor sobre os venenos, advertem que devemos mencionar a qualidade do veneno, o tempo durante o qual se aquece e o grau de diluição com que se opera.

Em solução 1‰ em NaCl 8‰ verificaram que o veneno de *Bothrops jararaca* perde a sua toxicidade a 70°C bem como o seu poder proteolico.

Referindo-se, porém, à ação do calor sobre o veneno seco, diz Noguchi (5) ser esta muito pequena, podendo ser aquecida a 130°C sem perder a toxicidade.



Por esta pequena exposição, sintese da escassa literatura que pudemos encontrar sobre a ação da temperatura em face das mais importantes atividades do veneno da *Bothrops jararaca*, vemos que muito pouco ainda existe sobre o assunto e que as opiniões dos diversos investigadores não são muito concordantes.

A importancia desta ação sobre um complexo enzimo-proteico como o veneno, é, entretanto, d etal monta, que resolvemos estudá-lo, em primeiro lugar, com o fim de estabelecer uma diretriz mais segura para o nosso problema de fracionamento.

Verificamos então a ação do calor sobre os principios toxico, coagulante e proteolitico do veneno, quer sêco, quer em solução, chegando a resultados que nos levam a afirmar que grande numero de fatores influe nesta ação.

Além da qualidade do veneno (de diferentes especies dentro do mesmo genero e diferentes extrações), do tempo de aquecimento, e, do grau de diluição em que se opera, como observam muito bem Vital Brazil e Rangel Pestana (4), outros fatores têm influencia como: o modo de aquecimento, a maneira como foi dessecado o veneno (no caso de não se usar veneno fresco), o pH da agua em que foi dissolvido, para não falar de maiores variações de pH que não entraram nas cogitações deste trabalho.

Si aquecermos a solução de veneno a fogo direto, as suas atividades diminuem mais rapidamente com o aumento de temperatura que si o fizermos em banho maria.

O veneno dessecado em alto vacuo apresenta-se mais homogeneo e resistente à temperatura e as atividades toxica, coagulante e proteolitica num "stock" são bem mais concordantes do que as de um "stock" de veneno dessecado em estufa a 37°C. Observamos tambem que, si dissolvermos o veneno em aguas distiladas cujos pH sejam diferentes, as suas atividades toxica, coagulante e proteolitica sofrem tambem variações.

O nosso trabalho foi realizado com um veneno dessecado em estufa a 37°C de um grande "stock" e, em diversas porções que temos utilizado para varios fins, achamos sempre resultados diferentes para os tres principios em questão.

Para eliminar esta causa de erro, fizemos, de uma só vez, a solução para todo o nosso trabalho.

Apenas para os aquecimentos acima da temperatura de ebulição, precisamos usar uma outra solução.

Esta foi a razão por que organizamos um quadro à-parte com estes resultados (Quadro IV).

Para o aquecimento do veneno seco, utilizamos veneno dessecado em estufa a 37°C (Quadro III) e tambem em alto vacuo (Quadro IV).

PARTE EXPERIMENTAL

a) Aquecimento do veneno seco

Este aquecimento foi feito com veneno seco em estufa a 37°C e em alto vacuo.

De ambos pesamos 0.22 mgs. de veneno para cada prova, colocamos em capsula e aquecemos em estufa a 130°, 140°, 150°, 160°, 170° e 180° durante uma hora.

Deixamos esfriar, juntamos 20cc. de agua bidistilada pH 6.2 para ter uma solução a 1% e procuramos dissolver o veneno tanto quanto possivel, pois à medida que aumentamos a temperatura, mais dificil se torna a dissolução.

Para separar os residuos insoluveis que são também tanto maiores quanto mais elevada a temperatura, centrifugamos o todo durante 30' e, na solução, dosamos as actividades, toxica, coagulante e proteolitica pelos seguintes processos: (Quadros I e II).

Actividade toxica: Em primeiro lugar adicionamos NaCl ao liquido filtrado de cada prova na proporção de 8.5 ‰, isto é, na do sôro fisiologico.

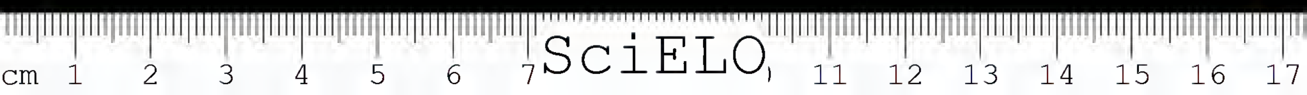
Determinamos a D. M. L. por injeção endovenosa em pombos, usando sempre o volume de 2 cc. e observando a técnica preconizada por Armando Taborda (6).

Em linhas gerais, a técnica é a seguinte: em pombos adultos de uma determinada raça e cuja diferença de peso não seja superior a 10 gs., por ex., entre 250 e 260 gs., injetam-se 2 ccs. da solução cuja toxicidade se deseja dosar e verifica-se a dose que matou o pombo em 10', com uma diferença de mais ou menos 1'.

Injetam-se então com esta dose mortal mais cinco pombos e verificam-se os tempos de morte dentro dos limites já citados (de mais ou menos 1 minuto). Si mais 4 pombos morrem dentro do limite a dose injetada é a D.M.L..

Quando fôr necessario usar diferentes raças faz-se mister observar a equivalencia entre elas para eliminar a causa de erro devido á diferença de resistencia entre as raças.

Actividade coagulante: Tambem para esta prova adicionamos NaCl ao liquido filtrado na proporção de 8.5 ‰ para evitar a hemolise. Determinamos então a quantidade de veneno expressa em gama (γ) capaz de coagular exatamente em 10 minutos e na temperatura de 20°C, a mistura de 2.5 ccs. de sangue oxalatado de cavalo, na concentração de 0,21% mais 0.5 cc. de soro fisiologico, considerando o sangue coabulado ao primeiro aparecimento do coagulo (7).



Expressamos em mgs. os resultados nos Quadros. Nos Graficos I e II empregamos logaritmos de $\frac{mgs.}{1000}$ ou γ

Atividade proteolitica: Medimos a atividade proteolitica, usando a mesma tecnica que no trabalho sobre a "Protease do veneno da *Bothrops jararaca*" (8).

Como o pH otimo de atividade da protease deste veneno é 8, segundo nossas determinações, trabalhamos somente neste pH.

A tecnica usada foi a de Iyengar, Sehra & Mukherjee (9) com ligeiras modificações. Usamos como *substratum* uma solução de caseinato de sodio a 2% e realizamos a proteolise da seguinte forma:

Num tubo graduado de 10 ccs. colocamos 5 ccs. de caseinato, ajustado ao pH 8 com NaOH N/10, juntamos 2 ccs. de "buffer" pH 8, 1 cc. da solução do veneno e completamos a 10 cc. com H_2O bidistilada, pH 6,2.

Assim, a concentração total do caseinato é de 1% e do veneno 0,1%.

Retiramos inicialmente 2 ccs. do todo, e precipitamos com 5 ccs. de acido tricloroacetico a 10%, filtramos e dosamos o nitrogenio não proteico inicial por micro-Kjeldahl. Juntamos então ao tubo de proteolise 0,05 cc. de toluol como antisseptico e incubamos em estufa durante 24 horas a 35°C, a temperatura otima que determinamos para esta protease. Ao fim deste tempo, retiramos novamente 2 ccs. do todo, precipitamos por 5 ccs. de acido tricloroacetico a 10%, filtramos e dosamos o aumento do nitrogenio não proteico.

b) Aquecimento de solução

Em nossas experiencias empregamos veneno de *Bothrops jararaca* dessecado em estufa a 37°C, em solução 1% em agua bidistilada pH 6,2 ao invés de em solução 8,5% de NaCl com o fim especial de abstrair de nossas experiencias a ação do NaCl sobre a atividade proteolitica do veneno.

Como a solução é usada imediatamente, não ha causa de erro com a precipitação das globulinas do veneno pela agua distilada e que se observa mais ou menos 6 dias após a dissolução. Medimos então as suas atividades toxica, coagulante e proteolitica iniciais pelos processos já descritos.

Tomamos 50 ccs. desta solução para cada prova, aquecemos em banho-maria só até atingir as temperaturas de 40, 50, 60, 70, 80, 90°C, e, até a ebulição (mais ou menos 98°C em São Paulo) e em cada uma destas temperaturas por 5, 10, 15 e 30 minutos, completando com H_2O bidistilada aquelas em que houve modificação de volume. A partir de 60°15' observamos uma turvação pela coagulação das proteinas.

Para as provas a 100°, 110° e 120°C usamos uma outra solução (tambem 50 ccs. para cada prova) e aquecemos só por 15' em autoclave pelas dificuldades que apresenta a retirada imediata do material.

Centrifugamos cada prova durante 30', filtramos e verificamos as suas atividades toxica, coagulante e proteolitica pelos metodos atrás citados.

DISCUSSÃOS DOS RESULTADOS

Pelas nossas experiencias, pudemos constatar que a influencia da temperatura sobre o veneno de *Bothrops jararaca* depende de varios fatores, como já dissemos. NOGUCHI já observara que a ação do calor sobre o veneno seco era muito pequena, podendo ser aquecido a 130°C sem perder a toxicidade. Realizamos este aquecimento durante 1 hora com veneno dessecado em estufa a 37°C (a 130° C em estufa) e observamos, tal como NOGUCHI, que o veneno de Jararaca nada perdeu na sua atividade toxica e nem tambem na coagulante e na proteolitica. Aquecemô-lo ainda a 140°, 150°, 160°, 170° e 180°C por 1 hora (Quadro I).

QUADRO 1

Temperatura	*Poder toxico (mgs. veneno)*	*Poder coagulante (mgs. veneno)*	*Poder proteolitico (mg. N%)*
Ambiente	0.062	0.005	121
130°C	0.063	0.005	121
140°C	0.109	0.005	108
150°C	0.110	0.008	107
160°C	20.000	1.000	78
170°C	20.000	1.800	45
180°C	—	—	5

+ Tempo fixo — 1 hora.

Verificamos, entretanto, que a dissolução do veneno (em agua bidistilada pH 6,2), depois de aquecido, é bem mais dificil, e, tanto mais quanto mais elevada a temperatura, devido, provavelmente, a uma desnaturação das proteinas inertes e a sua côr vai se tornando cada vez mais escura, passando do amarelo vivo até ao marrom.

A 180°C, finalmente, a parte mais soluvel é a corante, deixando insoluvel o residuo de substancia marrom. Este soluto feito do veneno após aquecimento a 180°C, por 1 hora, não é toxico ao pombo (2 ccs. por via venosa) nem coagulante e nem proteolitico. Já, porém, com o veneno dessecado em alto vacuo

realizamos aquecimentos a 170° e 180°C por 1 hora, notando maior resistencia deste, até 170°C (Quadro II).

QUADRO II

Temperatura	*Poder toxico (mgs. veneno)*	*Poder coagulante (mgs. veneno)*	*Poder proteolitico (mg. N%)*
170	16.000	0.800	11
180	—	—	8

+ Tempo fixo — 1 hora.

Verificamos ainda que este veneno embora seja inativado tambem a 180°C apresenta maior facilidade na dissolução e uma coloração apenas amarelo-carregada, sem o aspecto de veneno queimado tal como observamos no veneno dessecado em estufa a 37°C.

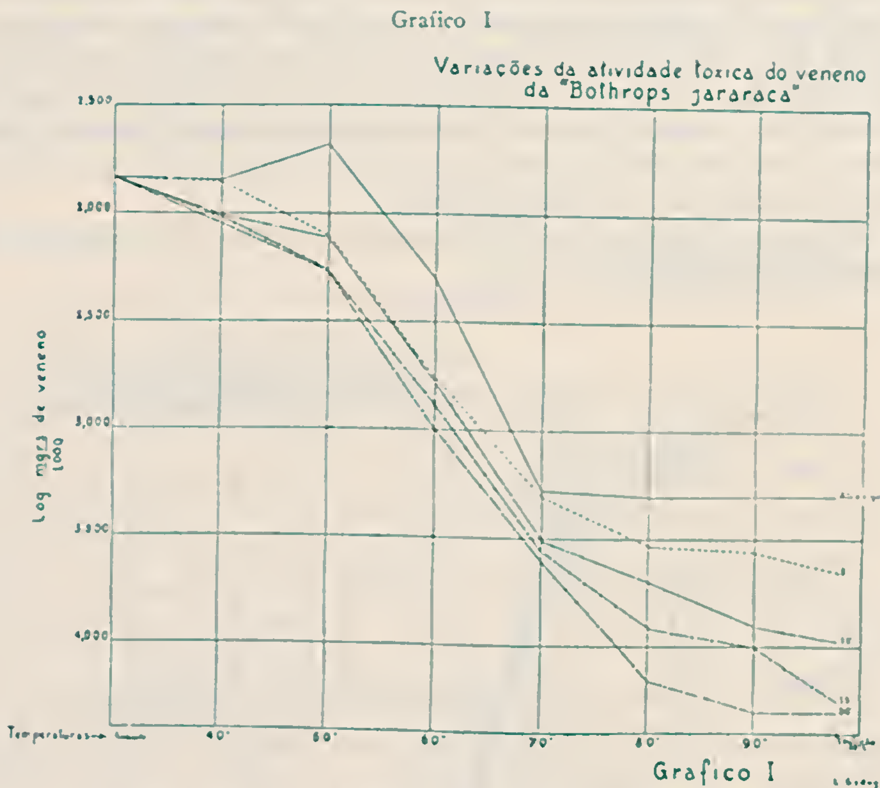
Em se tratando entretanto de soluções de veneno, a influencia da temperatura já se faz sentir desde 40°C (Quadro III), dependendo do tempo de aquecimento, conquanto apresente algumas anomalias quanto à perda progressiva de atividade em função do aumento de temperatura e do tempo de aquecimento.

QUADRO III

TEMPERATURAS	PODER TOXICO (mgs. veneno)					PODER COAGULANTE (mgs. veneno)					PODER PROTEOLITICO (mgs. N. %)				
Ambiente	0.069					0.005					137				
	Só até atingir	5'	10'	15'	30'	Só até atingir	5'	10'	15	30'	Só até atingir	5'	10'	15'	30'
40° C	0.070	0.072	0.102	0.104	0.112	0.007	0.007	0.008	0.009	0.009	137	121	112	108	102
50° C	0.048	0.128	0.130	0.185	0.188	0.008	0.011	0.013	0.015	0.021	135	133	123	105	104
60° C	0.200	0.370	0.600	0.772	1.000	0.015	0.400	0.500	0.500	0.500	125	111	109	106	105
70° C	1.900	2.100	3.200	3.600	4.000	0.025	0.050	0.500	0.500	0.600	117	35	29	28	24
80° C	2.000	3.400	5.000	8.200	14.300	0.055	0.200	0.500	0.600	1.000	28	18	18	18	10
90° C	2.000	3.600	8.000	10.000	20.000	0.120	0.700	0.800	1.000	2.500	25	14	12	8	5
Ebulição	2.000	4.500	9.500	18.000	20.000	0.160	1.500	1.800	2.000	3.500	21	12	12	10	7

Assim é que no Grafico I, na curva em que expressamos as atividades do veneno, após aquecimento só até atingir as diversas temperaturas, observamos uma ativação do poder toxico a 50°C e logo a 60°C uma atenuação acentuada e a 70°C uma quéda brusca desta atividade que, então, pouco se altera até à ebulição.

Grafico I



A perda total da toxicidade só se dá a 110°C por aquecimento durante 15' (Quadro IV).

QUADRO IV

Temperatura	*Poder toxico (mgs. veneno)*	*Poder coagulante (mgs. veneno)*	*Poder proteolitico (mg. N%)*
Ambiente	0,051	0,002	134
100°C	19,500	2,500	7
110°C	—	—	2
120°C	—	—	—

+ Tempo fixo — 15'.

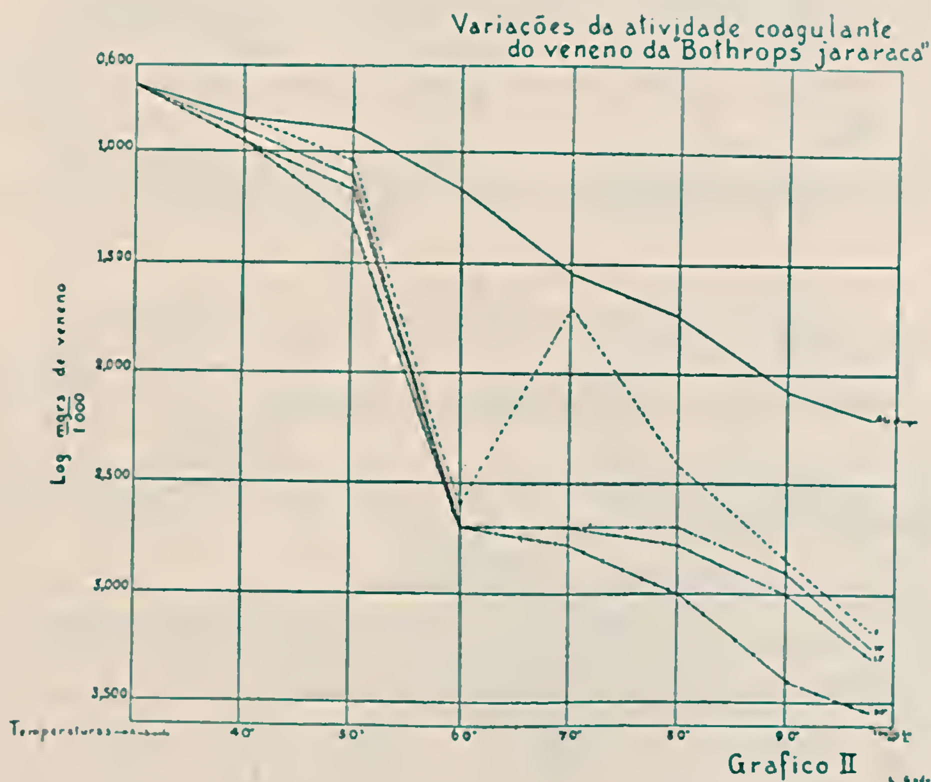
7

Acreditamos, apesar de termos trabalhado em condições diferentes, que Vital Brazil & Rangel Pestana (4), ao constatarem uma perda da atividade toxica deste veneno a 70°C, referiam-se não a uma perda total, mas, justamente a esta queda brusca de atividade que tambem observamos nesta temperatura.

Julgamos interessante consignar aqui, não obstante fora da alçada deste estudo, que os sintomas mortais nos pombos injetados com estas soluções aquecidas de 40° a 120° são bem diversos. De 40 a 70° observam-se hemorragias, grande agitação, bater de azas e, finalmente, a morte em decubito dorsal. De 70° a 120°, ao contrario, observa-se uma paralisia locomotora, dispnéa e, finalmente, a morte em decubito ventral. Estes sintomas tornam-se cada vez mais nitidos, à medida que a temperatura se eleva.

No que diz respeito à atividade coagulante. Grafico II, observamos uma diminuicão brusca a 60°.

Grafico II

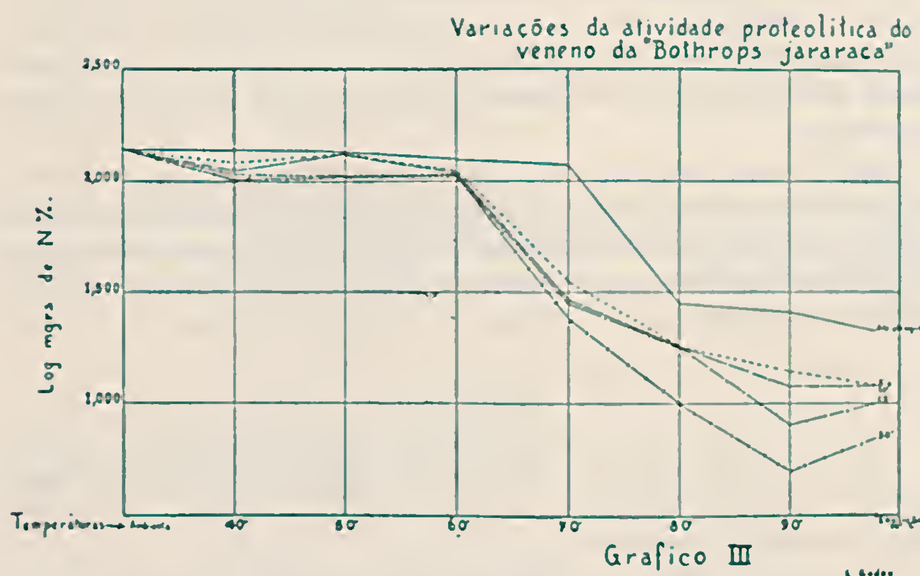


Houssay, Sordelli & Negrete (2) já haviam tambem constatado uma perda subita das atividades toxica e coagulante entre 60 e 70°C. Esses autores falam, entretanto, do reaparecimento destas propriedades, embora atenuadas, do

veneno por aquecimento a 80 ou 90°C. Em nossas experiencias, mesmo por ebulição durante 30', o veneno não perdeu totalmente nenhuma de suas atividades, entretanto, não pudemos tambem observar uma ativação dos poderes toxico ou coagulante por aquecimento a 80 ou 90°C.

Obtivemos entretanto uma notavel ativação do poder coagulante a 70°C e uma pequena ativação da toxicidade a 50°C, como já dissemos. No Quadro IV constatamos a inativação do poder coagulante a 110°C. Quanto ao principio proteolitico, Grafico III, obtivemos uma ativação a 50°C e à ebulição e inativação tambem a 110°C (Quadro IV).

Grafico III



Está fóra de duvida que a atenuação das diversas atividades é função tambem do tempo de aquecimento.

Observamos no Quadro III que o veneno aquecido só até atingir à temperatura de 40°C, por exemplo, é toxico para o pombo com 0 mg. 070, enquanto que com um aquecimento à mesma temperatura por 30' são necessarios 0 mg. 112 de veneno para matar o pombo.

Já o poder coagulante, conquanto haja sofrido tambem uma atenuação esta foi mais branda, passou de 0 mg. 007 por aquecimento só até atingir a 40°C para o mg. 009 após aquecimento a 40°C durante 30'.

O poder proteolitico sofreu uma atenuação mais acentuada do que o coagulante. Passou de 137 mgs. N% para 102 mgs. N% nas mesmas condições anteriores.

Além dos fatos já citados, devemos ainda frisar, quanto à influencia da temperatura sobre o veneno da *Bothrops jararaca,* que todas as atividades sofrem uma atenuação com o aumento de temperatura, salvo nos casos já citados e que é função do tempo de aquecimento. A atividade toxica cai bruscamente de 50 para 70°C, a coagulante de 50 para 60°C e a proteolitica de 60 para 70°C, exceto com o aquecimento só até atingir às diversas temperaturas em que observamos a queda brusca da atividade proteolitica a 80°C.

Aliás, a comparação das curvas referentes às temperaturas só até atingir, mostra-nos claramente que a temperatura age de modo diverso sobre estes tres principios. O principio toxico permanece inalteravel até 40°C, ativa-se a 50°C e cai bruscamente até 70°C e, praticamente, nada perde até à ebulição (98°C).

O principio coagulante sofre uma desnaturação regular e progressiva, podendo ser expressa esta perda quasi como uma função linear do acrescimo de temperatura. Finalmente, o principio proteolitico inativa-se lenta e progressivamente até 70°C para caír bruscamente de 70 para 80°C e daí pouco perder até à ebulição.

Sendo o escopo principal do presente trabalho investigar a ação da temperatura sobre os principios toxico, coagulante e proteolitico do veneno da *Bothrops jararaca,* para fins de fracionamento, prosseguimos no nosso trabalho, investigando com mais minucias as temperaturas exatas em que esses principios são alterados bruscamente.

RESUMO

Pelas nossas pesquisas em torno da influencia da temperatura sobre os principios toxico, coagulante e proteolitico do veneno da *Bothrops jararaca* chegamos aos seguintes resultados:

1) Que essa influencia depende de inumeros outros fatores além dos já observados por Vital Brazil e Rangel Pestana (qualidade do veneno, tempo de aquecimento e grau de diluição), isto é:

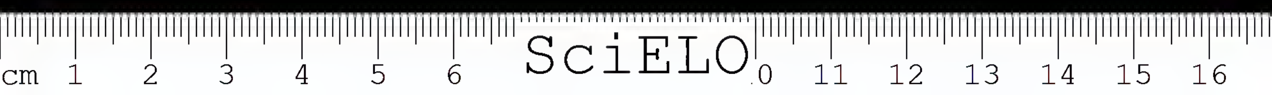
a) do modo como foi dessecado o veneno, si em estufa a 37°C ou em alto vacuo a baixa temperatura;

b) do pH da agua em que foi dissolvido;

c) do modo como foi aquecido — si a fogo direto ou indireto;

d) si o aquecimento foi realizado sobre o veneno seco ou em solução.

2) Que o veneno dessecado em estufa a 37°C e aquecido seco só é totalmente inativado à temperatura de 180°C.



3) Que o veneno dessecado em estufa a 37°C e em solução 1% em agua bidistilada pH 6,2 (como realizamos todo o nosso trabalho) é inativado totalmente à temperatura de 110°C.

4) Que, nas soluções, a influencia da temperatura já se faz sentir sobre os principios toxico, coagulante e proteolitico a partir de 40°C, dependendo do tempo de aquecimento.

5) Que o principio toxico é atividade a 50°, num aquecimento só até atingir essa temperatura, a 60°C sofre uma atenuação e a 70°C uma queda brusca desta atividade, nada mais perdendo até a ebulição.

6) Que o principio coagulante diminue bruscamente a 60°C, mas a 70°C observamos uma notavel ativação.

7) Que o principio proteolitico é ativado a 50° (5 e 10 minutos), e por ebulição (15 e 30 minutos), caindo bruscamente a 70°C. E' mais resistente à temperatura.

8) Que a comparação das ações da temperatura sobre estes tres principios evidencia uma notavel diferença nas suas temperaturas de atenuação brusca, o que faz crer serem aquelas entidades distintas. Este ponto será melhor elucidado pela determinação mais exata da temperatura de atenuação brusca de cada principio, no veneno integral, como mostraremos em outro trabalho.

Cremos, entretanto, devido aos inumeros fatores que influenciam a ação do calor sobre o veneno, que só por uma separação dos tres principios — o que é nosso escopo —poderemos obter dados mais exatos e tambem estabelecer a identidade ou diversidade destes principios.

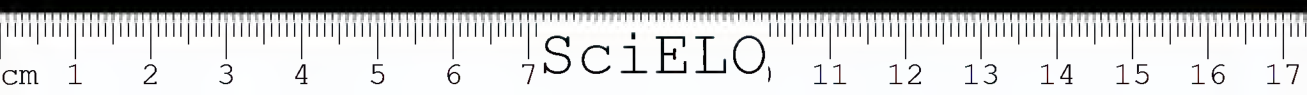
ABSTRACT

Our experiments studying the effect of the temperature on the toxic, clotting and proteolytic principles of the *Bothrops jararaca* venom led us to the following results:

1. That this effect depends on various other factors, besides those already stated by Vital Brazil and Rangel Pestana (quality of the venom, heating period and degree of dilution), that is:

a) the method of dehydration of the venom, if in the drying oven at 37°C or at low temperature and high vaccuum;

b) the pH of the water in which it has been dissolved;



c) the method of heating — if applying direct or indirect heat;

d) if the heating of the venom has been carried on in dry state or in solution.

2. That the venom dehydrated in the drying oven at 37°C. and heated in dry state loses its activity completely only at 180°C.

3. That the dehydrated venom in the drying oven at 37°C. and in 1% aqueous solution of bi-distilled water at pH 6.2 (as employed in all our experiments) is completely inactivated at 110°C..

4. That, when in solution, the temperature effect influences the toxic, clotting and proteolytic principles from 40°C. on, depending on the heating period.

5. That the toxic principle is activated at 50°C. heating being ceased as soon as this temperature is reached; at 60°C. it undergoes a decrease and at 70°C. an abrupt drop occurs, no other alteration being observed until the boiling point.

6. That the clotting principle activity drops suddenly at 60°C., at 70°C. a remarkable activation has been noticed when heated for 5 minutes.

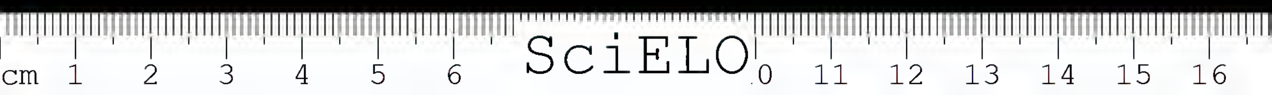
7. That the proteolytic principle is activated at 50°C. (5 and 10 minutes) and at the boiling point (15' and 30') and suffers a sudden drop at 70°C.. It is more thermo-resistant.

8. That a comparison of the effects of the temperature on these three principles shows a noticeable difference at the temperatures at which a sudden drop of their activity is observed, what makes us believe that these three principles are distinct entities. This fact will be better elucidated on determining the exact temperature at which each principle in the whole venom undergoes an abrupt decrease, as we shall show in another paper.

We believe, however, that on account of the numerous factors that influence the effect of the heat on the venom, only by a separation — our scope — we shall be able to secure exact data and also establish an identity or diversity of these principles.

ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über den Temperatur-Einfluss auf die toxischen, koagulierenden und proteolytischen Wirkungen des Giftes der "Bothrops jararaca" führten uns zu nachstehenden Schlussfolgerungen:



1. Dieser Einfluss hängt ausser denen, schon von Vital Brazil und Rangel Pestana beobachteten (Qualität des Giftes, Erhitzungszeit und Verdünnungsgrad) noch von vielen anderen Faktoren ab, die da sind:

a) Trocknungsweise, ob bei 37°C im trockenschrank oder bei niedriger Temperatur im Hochvakuum;

b) Die Wasserstoffionenkonzentration des Wassers, in dem das Gift gelöst wird;

c) Die Erhitzungsweise, ob direkt oder indirekt;

d) Ob die Erhitzung eines trockenen oder eines sich in Lösung befindenden Giftes erfolgt.

2. Ein bei 37°C im Trockenschrank getrocknetes Gift wird, wenn als Trockensubstanz erhitzt, erst bei 180°C vollständig inaktiviert.

3. Ein bei 37°C im Trockenschrank getrocknetes Gift wird, wenn in 1% Lösung in bi-destiliertem Wsser (pH 6,2) erhitzt wird (unsere Untersuchumgen sind so ausgeführt worden) bei 110°C volltändig inaktiviert.

4. In Lösungen ist der Temperatur-Einfluss auf die toxische, koagulierende und proteolytische Wirkung bei 40°C bemerkbar, jedoch abhängig von der Erhitzungszeit.

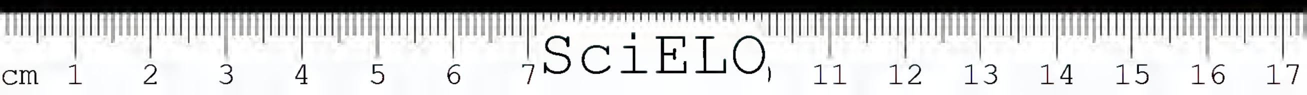
5. Die toxische Wirkung wird bei 50°C aktiviert, falls bis zu dieser Temperatur erhitzt wird; bei 60°C erleidet die Aktivität eine Verminderung und bei 70°C fällt sie plötzlich, ohne bis zur Erreichung der Siedetemperatur einen weiteren Verlust zu erfanren.

6. Die koagulierende Wirkung fällt plötzlich bei 60°C und aktiviert sich bemerkenswerter Weise bei 70°C, wenn 5 Minuten erhitzt wird.

7. Die proteolytische Wirkung wird bei 50°C (5 und 10 Minuten) und bei Siedetemperatur (15-30 Minuten) aktiviert, fällt plötzlich bei 70°C und ist temperaturbeständiger.

8. Da die Vergleichung des Temperatur-Einflusses auf die drei Wirkungen deutlich einen bemerkenswerten Unterschield in der plötzlichen Verminderung der Aktivität durch die Temperatur zeigt, glauben wir, dass es sich um verschiedene Prinzipien handelt. In weiteren Untersuchungen werden wir die genauen Temperaturen der plötzlichen Verminderung der Aktivität jeder dieser drei Wirkungen im Gesammt-Gift bestimmen und so diesen Punkt besser aufklären.

Da die Wirkung der Temperatur auf das Gift von vielen Faktoren beeinfiusst wird, nehmen wir an, nur durch eine Trennung der drei Wirkungen —



unser Ziel — genauere Angaben zu bekommen und die Gleichheit oder Verschiedenheit dieser Wirkungen festzustellen.

BIBLIOGRAFIA

1. *Calmette, A.* — Les venins: 16 e 215.1907.

2. *Houssay, B. A.; Sordelli, A. & Negrete, J.* — Rev. Inst. Bact. Bs. Aires 1(5):565.1918.

3. *Noc, F.* — Ann. Inst. Pasteur **18**(1):387.1904.

4. *Brazil, Vital & Rangel Pestana, B.* — Coletanea de Trabs. Inst. Butantan **1**:151.1901-17.

5. *Noguchi, H.* — Cit. *in* Phisalix, Marie — Animaux Venimeux et Venins **2**:478.1922.

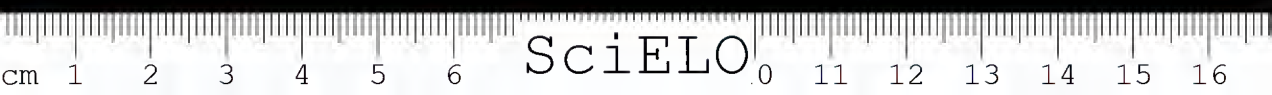
6. *Taborda, Armando* — Nota previa apresentada à Soc. de Biologia de S. Paulo, sessão de 8-2-940 (Comunicado pessoal do autor).

7. *Taborda, Armando* — Memorias Instituto Butantan **13**:431.1939.

8. *Taborda, Armando & Taborda, Laura C.* — Trabalho apresentado à Soc. de Biologia de S. Paulo, sessão de 8-2-940.

9. *Iyengar, N. K.; Sehra, K. B. & Mukerjee, B.* — Indian J. of Med. Res. **26**(2):487.1938.

(Trabalho da Secção de Quimica e Farmacologia Experimentais, apresentado à Soc. de Biologia de S. Paulo em 8-2-940. Dado à publicidade em dezembro de 1940).



612.3141

PROTEASE DO VENENO DA *BOTHROPS JARARACA*

POR

ARMANDO TABORDA & LAURA C. TABORDA

O papel das enzimas proteoliticas ou proteases dos venenos de cobra começa, á luz de recentes investigações, a assumir aspecto de grande importancia, especialmente na aplicação dos venenos em terapeutica.

Assim é que IYENGAR, SEHRA & MUKHERJEE (1) procuraram explicar, pela presença destas enzimas no veneno, o fato observado por CHOPRA, MUKHERJEE & CHOWHAN (2) de variações da viscosidade e tensão superficial do sangue de macacos (*Silenus rhesus*) após injeção de veneno de *Naja tripudians* e logo uma normalização em cerca de 24 horas.

Admitem eles que as enzimas proteoliticas do veneno digerem o excesso de proteinas que ocasiona tais variações, excesso esse devido, possivelmente, a um aumento da concentração de proteinas no plasma pela propria injeção de veneno.

No estudo da protease do veneno da *Cobra* chamam a atenção para a presença de um inibidor dessa protease que, associado a uma baixa concentração do veneno, acreditam ser de grande interesse no tratamento do cancer.

Imaginam que esses fatores possam ser os responsaveis pela digestão seletiva das celulas dos tumores pelo veneno, sem afetar o tecido original.

Diante desses estudos e de inumeros outros, que nos mostram a notavel importancia das enzimas proteoliticas dos venenos de cobras fomos levados a estudar as proteases das serpentes brasileiras, começando pelo da *Bothrops jararaca*, uma das mais frequentes entre nós.

A atividade proteolitica deste veneno, já ha muito constatada por LACERDA (3), LAUNOY (4), VITAL BRAZIL & RANGEL PESTANA (5), DELEZENNE (6), CALMETTE (7), NOC (8), HOUSSAY e NEGRETE (9), etc., não fôra até agora identificada sob as leis da atividade enzimatica.

Conhecia-se-lhe apenas a propriedade de digerir proteinas como gelatina, fibrina, caseina, albumina de ovo, etc., e algumas influencias de alcalis, acidos, sais, etc. sobre esta digestão, porém investigações puramente qualitativas.

Estudamô-la, então, sob as leis que regem as enzimas, determinando-lhe os otimos de atividade

Nossas determinações foram baseadas no aumento de nitrogenio não proteico por hidrolise do caseinato de sodio, segundo a tecnica de IYENGAR, MUKHERJEE & SEHRA, posto que o metodo de BAYLISS (10) que mede a variação da condutividade eletrica não deu bons resultados.

Concentrações otimas do *substratum* e da protease

O *substratum* que usamos, segundo a tecnica de IYENGAR, SEHRA & MUKHERJEE, foi uma solução de caseinato de sodio a 2% (caseina de Hammarsten).

Variando, porém, para percentagens maiores ou menores a concentração do *substratum*, verificamos que precisariamos variar proporcionalmente a percentagem de enzima e o nosso interesse era exatamente usar concentrações mais baixas.

A nossa protease comportou-se magnificamente numa concentração de 0,01% sobre um *substratum* de caseinato de sodio a 1%.

pH otimo da protease

Para a determinação do pH otimo, fizemos variar o pH do *substratum* de 2 a 10 e dosamos o aumento do nitrogenio não proteico por micro-Kjeldhal.

Para tal, empregamos uma solução de caseinato de sodio a 2% como *substratum*.

5 ccs. deste *substratum* ajustados aos pH de 2 a 10 com H_2SO_4 N/10 ou NaOH N/10 foram postos em diversos tubos de ensaio, adicionados de 2 ccs. de "buffer" de mesmo pH e 1 cc. de solução de veneno seco 0,1% e completado a 10 ccs. o volume final.

A concentração final do veneno é então de 0,01% e do caseinato 1%.

Após, 2 ccs. são retirados, a caseina precipitada por 5 ccs. de acido tricloroacetico a 10% e no filtrado dosado o nitrogenio não proteico inicial.

Os diversos tubos foram postos em estufa a 35°C por 24 horas após adição de 0.05 cc. de toluol como antisseptico.

Exatamente ao completar as 24 horas de digestão, mais 2 ccs. foram retirados de cada tubo, procedendo-se como anteriormente para a dosagem do nitrogenio.

Pelo aumento deste nitrogenio podemos apreciar o grau da proteolise nos diversos pH.

Queremos observar aqui que todas as nossas dosagens foram precedidas de provas em branco e os nossos resultados representam uma media de 3 dosagens.

O acrescimo de nitrogenio não proteico em mg.% pode ser apreciado pelo Grafico I.

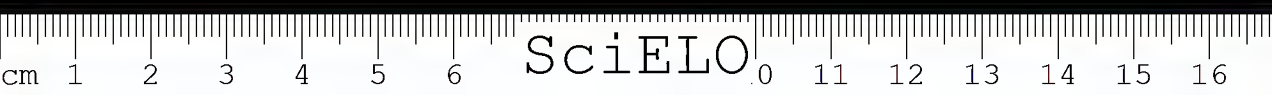
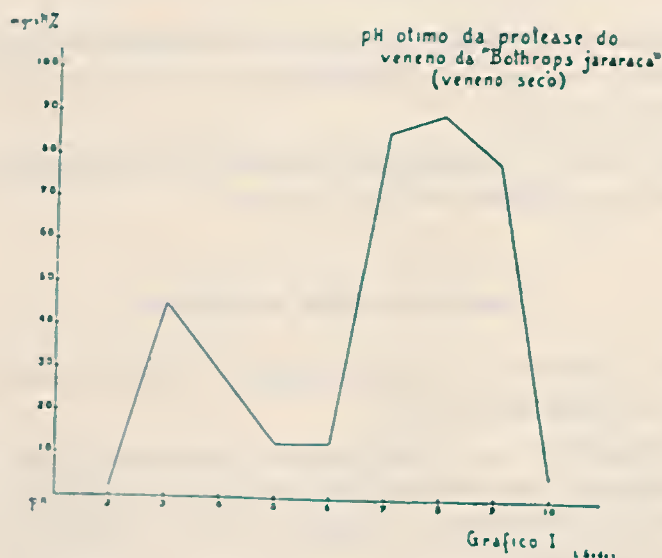


Grafico I

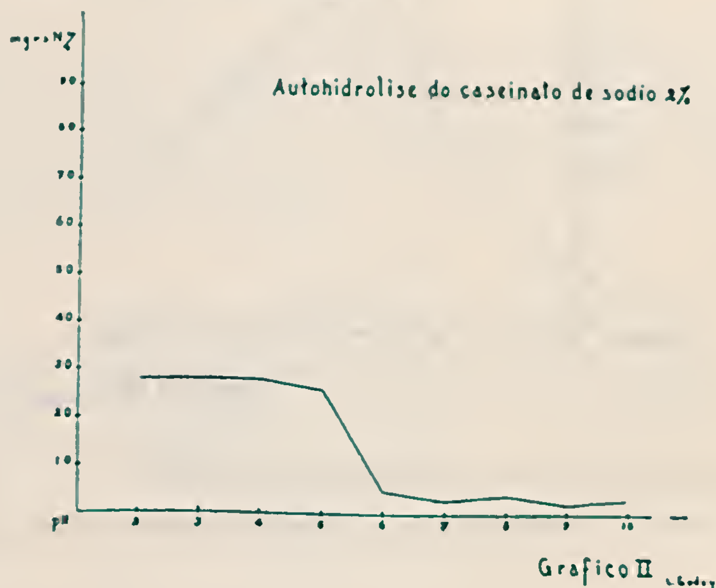


Verificamos por este Grafico que o otimo de atividade da nossa enzima é em pH 8.

Conhecido, porém, o fato de que a propria caseina se autodigere (11), procuramos conhecer o grau dessa autohidrolise nos diversos pH de 2 a 10, tal como fizemos para o estudo da protease do veneno da Jararaca.

Verificamos então o seguinte aumento de nitrogenio não proteico em 24 horas de incubação a 35°C (vêr Grafico II).

Grafico II



Como vemos, a autohidrolise da caseina é mais nitida nos pH acidos que nos alcalinos, mas, nem por isso, desprezivel quando se trata de obter os resultados mais exatos possiveis.

Tomamos, então, em consideração essa autohidrolise, deduzindo-a da digestão com veneno para eliminar essa fonte de erro.

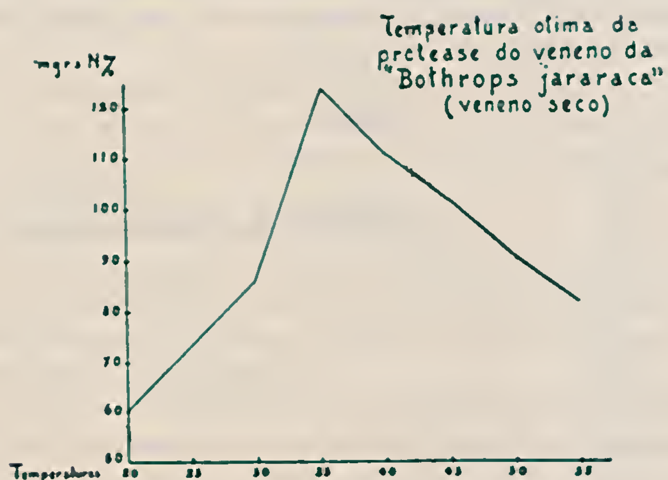
Temperatura otima da protease

Conhecido o pH otimo de atividade da protease do nosso veneno, procuramos determinar a sua temperatura otima.

Assim, procedendo como anteriormente, preparamos diversos tubos para proteolise em pH 8 e, após retirados 2 ccs. para dosar o nitrogenio inicial, colocamos em estufa em temperaturas variaveis de 5 em 5° desde 20° até 55°C com erro de mais ou menos 1°C.

O aumento de nitrogenio não proteico em mg.% podemos apreciar no Grafico III.

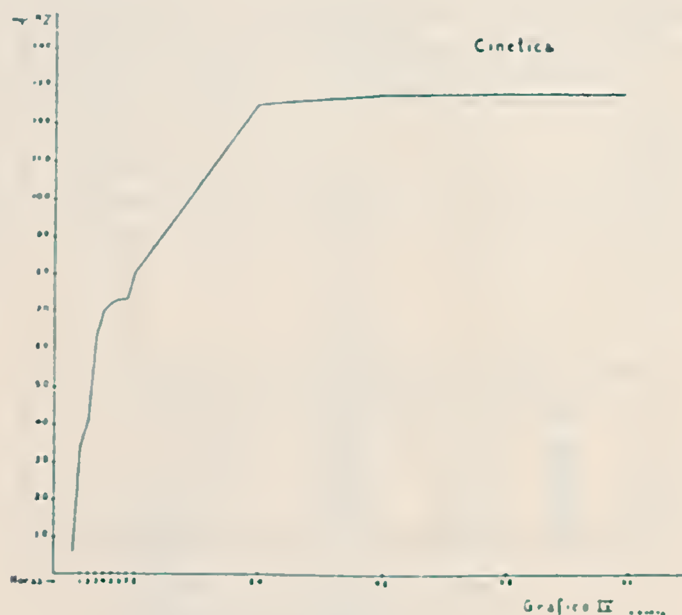
Grafico III



Constatamos assim que a temperatura otima foi 35°C.

Pelo Grafico IV verificamos que a proteolise é progressiva até 72 horas de digestão.

Grafico IV



Cinetica da proteolise

Conhecidas as duas principais caracteristicas da nossa protease, pH e temperatura otimos, estudamos a seguir a cinetica da proteolise pela enzima proteolitica do veneno da Jararaca, procurando vêr se esta seguia a regra de Schütz, isto é, si com uma quantidade fixa de enzima, as transformações seriam proporcionais à raiz quadrada dos tempos de digestão:

$$x = K \sqrt{t}$$

Colocando um tubo de proteolise em pH 8 numa estufa a 35°C, após dosar o nitrogenio não proteico inicial, fomos dosando de hora em hora o aumento desse nitrogenio (Vêr Tabela I).

TABELA I

(*t*) Tempo (horas)	*x* (aumento de *N* não proteico) %	*x* (calculado) $x = K\sqrt{t}$
1	34	34,3
2	42	47,5
3	63	59,4
4	70	68,6
5	72	76,7
6	73	69,8
7	73	75,4
8	80	80,6
24	125	124,9
48	128	
72	129	
96	129	

$x = K\sqrt{t}$ até 5 hs. K = 34,3
da 6.ª a 8.ª K = 28,5
após 24 hs. K = 25,5
e daí vai baixando para 15, após 72 hs. de digestão, quando não ha mais hidrolise.

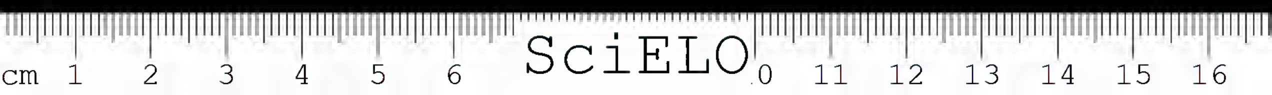
Verificando que a partir da quinta hora a proteolise prosseguia lentamente, continuamos as nossas dosagens até a oitava hora e, depois, só ao completar 24, 48, 72 e 96 horas.

Depois de 72 horas a proteolise estacionou, possivelmente, devido á formação de algum inibidor durante a digestão. Aliás, Waldschmidt-Leitz (12), citando Arrhenius, diz que a velocidade de reação não é unicamente proporcional á concentração do *substratum* existente neste tempo, mas é, além disto, inversamente proporcional à quantidade já transformada.

E' interessante observarmos que, tal como no exemplo citado por Waldschmidt-Leitz, a velocidade da proteolise pelo veneno de Jararaca corre regularmente até a quinta hora, isto é, exatamente até 50% de hidrolise do *substratum*.

Antissepticos

Sempre que estudamos a ação de uma enzima, temos necessidade do emprego de um antisseptico para evitar as ações bacterianas.



Não é, porém, indiferente que se empregue tal ou qual antisseptico.

Ha os que funcionam como verdadeiros ativadores e outros como inibidores.

Já E. H. Walters (13) se refere á ação dos antissepticos na digestão da caseina pela tripsina, observando que o toluol tem uma ação ativante.

Estudando, no nosso caso, a ação dos antissepticos mais comuns, pudemos observar que o toluol se revelou o mais aconselhavel.

Infelizmente, não pudemos conseguir antissepticos como Nipagina, Nipazol, Mertiolato, etc. para o nosso estudo.

Realizando ensaios nos pH e temperatura otimos, usamos 0,05 cc. dos diversos antissepticos e obtivemos os seguintes aumentos de nitrogenio constantes da Tabela II.

TABELA II

Antissepticos	*mgs. N%*
Toluol	125
Xilol	120
Timol	95
Fenol	94
Formol	14
Cresol	14

Podemos dizer, apreciando os resultados da Tabela I, que o formol e o cresol funcionam como verdadeiros inibidores da protease do veneno.

Ativadores e inibidores

Pesquisando, sob todos os aspectos, a natureza da nossa protease, procuramos submetê-la à ação de ativadores e inibidores especificos de proteases conhecidas.

Realizamos as ativações e inibições nos pH e temperatura otimos (pH 8 a 35°C.), incubando em estufa a 35°C por 24 horas.

Pelo bicloreto de mercurio obtivemos uma inibição completa, empregando 1 cc. de solução 0,1% de $HgCl_2$.

Pelo KCN (1 cc. sol. 0,1%) pudemos constatar apenas um aumento de 18 mgs. N% e pelo H_2S (1 cc. sol. saturada), um aumento de 94 mgs..

Finalmente, pela fervura durante 1 hora obtivemos uma grande diminuição de atividade, pois, o aumento de nitrogenio foi apenas de 8 mgs. N%.

Fazendo agir, porém, 1 cc. de uma solução da mucina do proprio veneno, após 6 vezes lavada em agua distilada, obtivemos uma pequena ativação, isto é, um aumento de 132 mgs. N%..

Fazendo ainda agir uma solução 0,1% de acido ascorbico, obtivemos um aumento de 131 mgs. N%. Na Tabela III podemos apreciar melhor estes resultados, calculados em % de inibição e ativação.

TABELA III

Inibidores e Ativadores	*mgs.* N%	%
KCN	18	85,5 de inibição
Ebulição	8	93,5 " "
$HgCl_2$	1	99,2 " "
H_2S	94	24,2 " "
Acido ascorbico....	131	5,6 " ativação
Mucina	132	6,4 " "

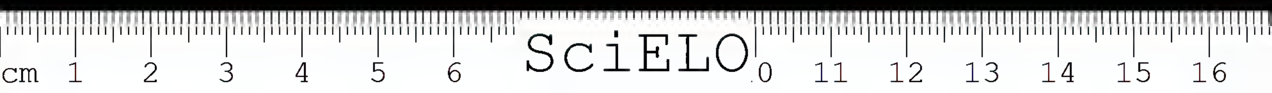
Constatada a inibição por $HgCl_2$, KCN e H_2S verificamos que a protease do veneno da Jararaca não é do genero das papainases e pelo seu pH otimo em 8 tambem não é do genero das pepsinases, mas, tal como a protease do veneno da *Cobra*, pertence ao genero das triptases.

Desejavamos verificar tambem a ação da enteroquinasa sobre a protease do veneno, mas não pudemos obter tal produto na praça.

Resolvemos então prepará-lo e voltaremos noutro artigo a tratar dos ativadores e inibidores.

Hidrolise pela tripsina

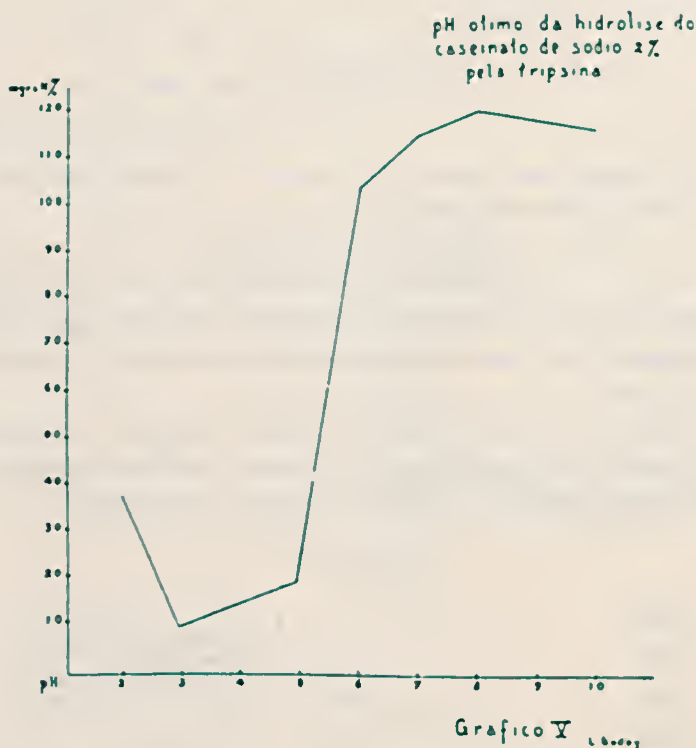
Pela semelhança de ação entre as triptases e a protease do veneno da Jararaca, procedemos tambem à hidrloise da caseina pela tripsina, nas mesmas condições em que para o veneno.



5 ccs. de caseinato de sodio, ajustados aos diversos pH de 2 a 10 com $H_2SO_4N/10$ ou Na OH N/10, foram postos em diversos tubos, adicionando-se 2 ccs. de "buffer" dos diversos pH. 1 cc. de solução de tripsina a 0,1% e completamos o volume a 10 ccs., de sorte que a concentração final da tripsina fosse de 0,01% e do caseinato 1%.

Dosando o nitrogenio não proteico inicial e após 24 horas de digestão a 35°C, verificamos o seguinte aumento (vêr Grafico V):

Grafico V

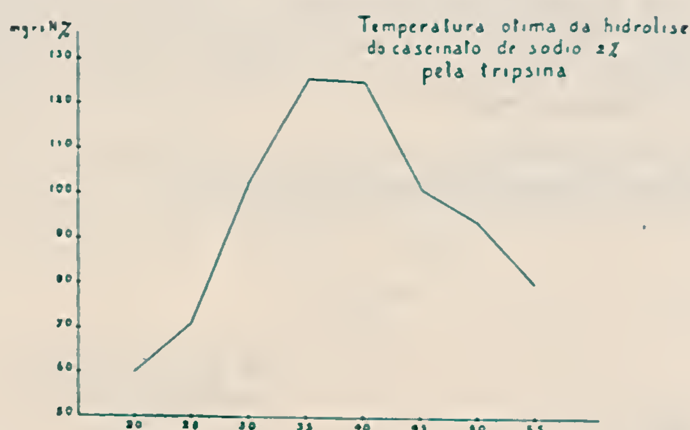


Como vemos pelo Grafico V, tambem para a tripsina obtivemos um otimo de atividade em pH 8.

Temperatura otima

Procedendo ainda da mesma maneira que para o veneno, obtivemos a seguinte variação do nitrogenio não proteico, conforme o Grafico VI.

Grafico VI



Ainda na temperatura otima observamos um grande paralelismo entre a tripsina e a protease do nosso veneno.

Hidrolise pela pancreatina

Procedendo sempre do mesmo modo que para o veneno, usamos uma solução de pancreatina a 0,1% de sorte que a concentração final fosse de 0,01% e determinamos o pH otimo.

Pelo Grafico VII, que resume os nossos resultados, observamos que a hidrolise da caseina pela pancreatina já se afasta mais da hidrolise da caseina pelo veneno e que nos pH 7 e 8 não ha diferença de atividade.

Grafico VII



Até aqui as nossas pesquisas foram feitas com soluções de veneno seco de um "stock" de um ano.

Esse veneno foi dessecado a 37°C e em media 5 ccs. de veneno fresco produzem 1 g. de veneno seco. Antes, porém, da secagem o veneno é centrifugado, separando-se dessa forma a mucina e outras impurezas.

Desejando verificar o comportamento do veneno fresco em relação à sua atividade proteolitica, realizamos digestões pelo veneno centrifugado e sem centrifugar.

Um fato curioso pudemos observar no tocante ao veneno fresco e sem centrifugar.

Embora o pH otimo de atividade seja realmente 8, os resultados da hidrolise com venenos de diferentes extrações não são absolutamente concordantes, e os aumentos de nitrogenio não proteico são bem maiores que com o veneno seco, especialmente com o veneno não centrifugado.

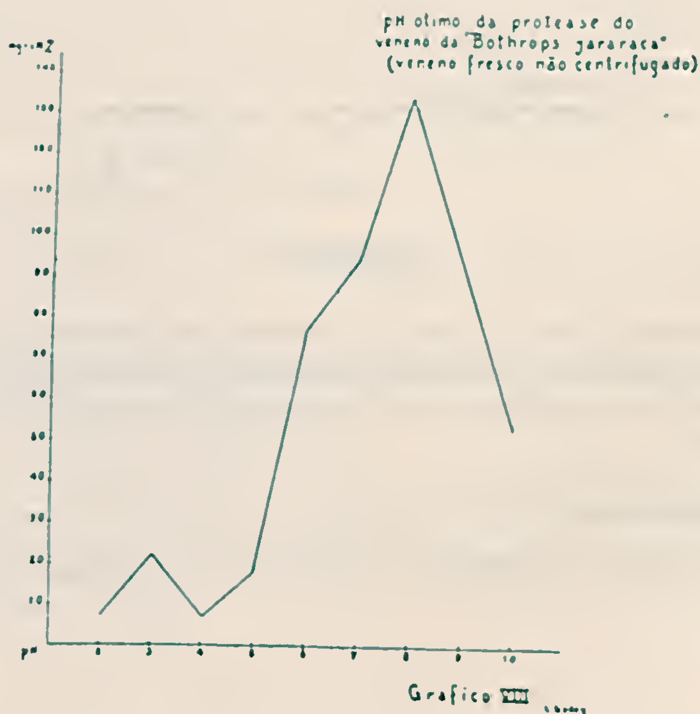
Acreditamos, pois, que a mucina e demais impurezas tenham uma ação ativadora da hidrolise.

Hidrolise pelo veneno fresco sem centrifugar

Procedendo sempre da mesma maneira, usamos, entretanto, 1 cc. de uma solução 0.05% de veneno fresco correspondente a 0,01% de veneno seco, pois, como dissemos, em media 5 ccs. de veneno fresco dão uma grama de veneno seco.

O Grafico VIII mostra os nossos resultados e o pH otimo em 8.

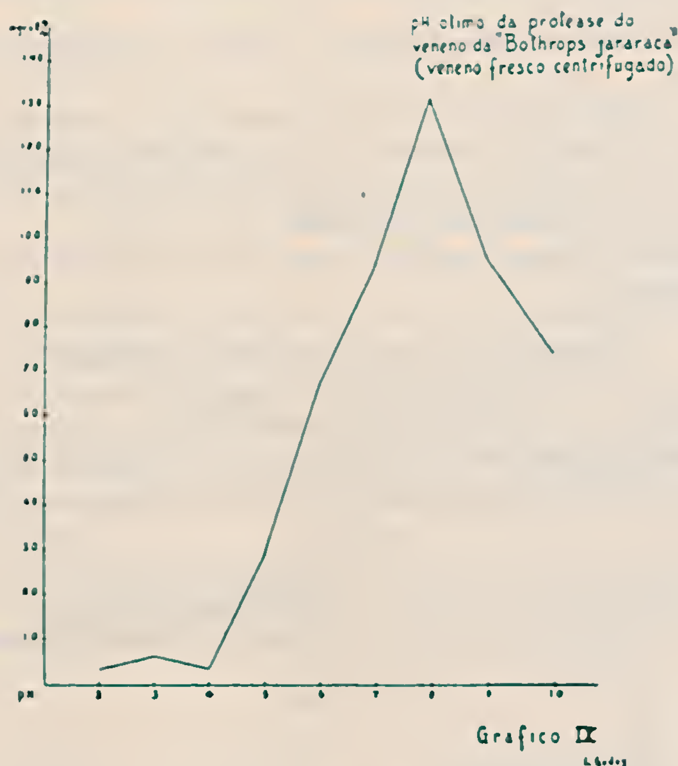
Grafico VIII



Hidrolise pelo veneno fresco centrifugado

Realizamos aqui os nossos ensaios como no caso do veneno sem centrifugar e obtivemos os resultados que se vêm no Grafico IX.

Grafico IX



RESUMO

Determinamos todos os otimos de atividade da protease do veneno da *Bothrops jararaca* sob as leis enzimaticas, usando veneno dessecado em estufa a 37°C, veneno fresco centrifugado e não centrifugado, observando maior atividade neste ultimo.

Sintetizando temos:

1) o otimo de concentração da enzima 0,01% e do *substratum* (caseinato de sodio) 1%;

2) o pH otimo 8;

3) a temperatura otima 35° C;

4) o antisseptico otimo, toluol;

5) a cinetica da proteolise obedece à regra de Schütz, ou seja, a caseina digerida é sensivelmente proporcional à raiz quadrada dos tempos de digestão;

6) realizamos a autohidrolise do caseinato nas mesmas condições em que serviu de *substratum;*

7) estudamos alguns ativadores e inibidores especificos de proteases conhecidas, conseguindo inibições pelo $HgCl_2$, KCN e por ebulição, e ativações pelo acido ascorbico e pela mucina;

8) determinamos, nas mesmas condições que para a protease do veneno, o pH e temperatura otimos da hidrolise do caseinato pela tripsina e o pH pela pancreatina, notando uma grande analogia entre a hidrolise pela tripsina e pelo veneno;

9) pelos seus otimos de atividade, suas ativações e inibições, a protease do veneno da *Bothrops jararaca* pertence ao genero das triptases.

ABSTRACT

All the activity optimums of the proteasis of the *Bothrops jararaca* venom in regard to the enzymatic rules have been determined, using venom dehydrated in the drying oven at 37°C., fresh centrifuged venom and non-centrifuged venom; the greatest activity has been noticed in the latter.

The following results were obtained:

1. the concentration optimum of the enzyme 0.01% and of the substract (sodium-caseinate) 1%;

2. the pH optimum 8;

3. the temperature optimum 35°C.;

4. the antiseptic optimum toluol;

5. the proteolyse cinetic obeys the rules of Schütz, that is, the amonut of digested casein is proportional to the square root of the time of digestion;

6. the autohydrolysis of the caseinate used as a substract, has been effected under the same conditions;

7. a few specific activators and inhibitors of known proteasis have been studied; inhibition by $HgCl_2$, KCN and boiling, as well as activation by ascorbic acid as mucine have been secured;

8. under the same conditions as for the proteasis of the venom, the optimum pH and temperature for the hydrolysis of the caseinate by trypsine and the pH by the pancreatine have been determined, a great analogy between the hydrolysis by the venom and the trypsine having been observed;

9. on account of its optimum of activity, activations and inhibitions, the proteasis of the *Bothrops jararaca* venom belongs to the tryptasis type.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Aktivitäts-Optima der Protease des *Bothrops jararaca*-Giftes sind unter Berücksichtigung der enzymatischen Gesetze bestimmt worden: die Verwendung von im Trockenschrank bei 37°C getrocknetem Gift, auszentrifugiertem frischen und unzentrifugiertem Gift erwies grösste Aktivität des letzteren.

1. Das Konzentrations-Optimum des Enzyms 0.01% und des Substraktes (Natrium-Kaseinat) 1%;

2. das pH-Optimum, 8;

3. das Temperatur-Optimum, 35°C;

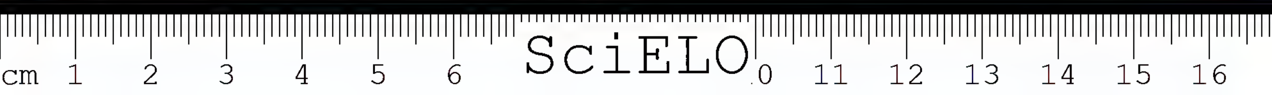
4. das Antisepticum-Optimum, Toluol;

5. die Kinetik der Proteolyse gehorcht der Regel von Schütz, d. h., das digerierte Kasein ist der Quadrat-Wurzel der Verdauungszeiten deutlich proportional;

6. die Autohydrolyse des Kaseinats, das als Substrakt diente, wurde unter gleichen Bedingungen ausgeführt;

7. einige spezifische Aktivitäts- und Hemmungs-Faktoren bekannter Proteasen wurden untersucht; durch $HgCl_2$, KCN und Kochen wurde Hemmung und durch l-Ascorbin-Säure und Mucin Aktivierung festgestellt;

8. Unter den gleichen Versuchsbedingungen wie für die Protease des Giftes, wurden pH- und Temperatur-Optima für die Hydrolyse des Kaseinats durch Trypsin und das pH durch Pancreatin bestimmt, wodurch eine grosse Ähnlichkeit zwischen der Hydrolyse des Trypsins und des Giftes festgestellt werden konnte;

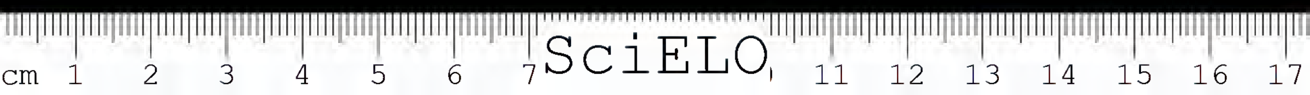


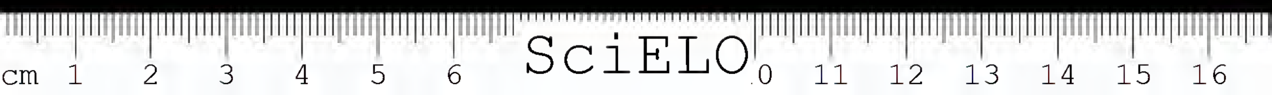
9. Nach den Optima der Aktivität, Aktivierung und Hemmung zu schliessen, gehört die Protease des *Bothrops jararaca*-Giftes zu der Klasse der Tryptasen.

BIBLIOGRAFIA

1. *Iyengar, N. K.; Sehra, K. B. & Mukherjee, B.* — Indian J. of Med. Res. **26** (2): 487. 1938.
2. *Chopra, R. N.; Mukherjee, S. N. & Chowhan, J. S.* — Indian J. of Med. Res. **25** (1):137. 1397.
3. *Lacerda, J. B.* — Leçons sur le venin des serpents du Brésil :126.1938.
4. *Launoy, L.* — C. R. Acad. Sciences **135**:401.1902.
5. *Brazil, Vital & Rangel Pestana, B.* — Coletanea de Trabs. Instituto Butantan **1**:151. 1901-07.
6. *Delezenne, C.* — Bull. Acad. Med. 1910 (6 Dec.).
7. *Calmette, A.* — Les venins :214.1907.
8. *Noc, F.* — Ann. Inst. Pasteur **18**:387.1904.
9. *Houssay, B. A. & Negrete, J.* — Rev. Inst. Bact. Bs. Aires **1**(3):341.1918.
10. *Bayliss, W. M.* — J. of Physiology. 1907-08.
11. *Walters, E. H.* — J. of Biol. Chemistry **12**:43.1912.
12. *Waldschmidt-Leitz* — Enzyme actions and properties :29.1929.
13. *Walters, E. H.* — J. of Biol. Chemistry **11**:267.1912.

(Trabalho de colaboração das Secções de Fisico-Quimica e Quimica e Farmacologia Experimentais do Instituto Butantan e apresentado à Sociedade de Biologia de S. Paulo em 8-2-940. Dado à publicidade em dezembro de 1940).




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

542.64

NOVA CAMARA PARA DIALISE

POR

ARMANDO TABORDA & JOSÉ SALCEDO NAVARRO

O consideravel aumento da produção industrial do Instituto Butantan nos ultimos dois anos colocou-nos diante de varios problemas dentre os quais o da dialise dos soros.

A instalação existente para este mister era muito deficiente e, sobretudo, não comportava qualquer acrescimo de atividade.

Compunha-se duma simples calha de madeira, colocada dentro de uma velha camara frigorifica, cuja temperatura oscilava de 8 a 12°C. A capacidade dessa calha era de 14 sacos de 1 litro e a agua proveniente da rede adutora mantinha os cartuchos a uma temperatura media de 20°C, o que, não poucas vezes, deu causa a que os soros fermentassem.

Estes soros fermentados adquiriam um cheiro desagradavel e persistente, não desaparecendo com as ulteriores manipulações — fenicagem, filtração, etc..

Urgia, pois, melhorar tecnicamente as instalações de dialise e ampliá-las convenientemente, tal como haviamos proposto no relatorio de 1938. Assim, a 8 de outubro de 1939 — apresentamos um esquema com a seguinte descrição para a camara de dialise:

1) Capela envidraçada com portas de abrir.

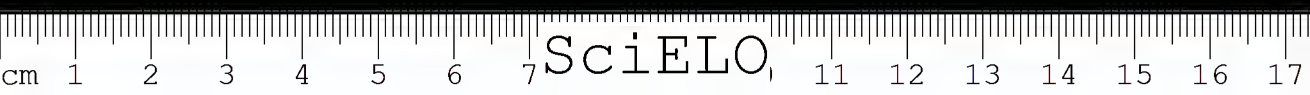
2) Tanque de dialise, em folha de chumbo, dividido em 2 unidades independentes de 2ms.50 de comprimento por 0m.50 de largura e 15 cms. de profundidade (capacidade — cerca de 170 litros cada).

3) Serpentina em canos de chumbo com 2 entradas.

4) Isolamento de cortiça e base de alvenaria.

5) Cavalete ou cantoneiras de ferro com ganchos.

6) Maquina frigorifica capaz de renovar e manter refrigerada a agua dos dois tanques entre 0 e 4°C. A renovação deverá ser de pelo menos 1/10 do volume total por hora.



Finalmente, no inicio do corrente ano foi executada a construção da Nova Camara para Dialise, que, com as modificações de ordem tecnica sugeridas pelo engenheiro construtor (*), tem preenchido de modo cabal o fim a que se destina.

O nosso escopo, ao dar publicidade à presente camara de dialise, é preencher uma lacuna que se observa na literatura especializada, quanto à falta quasi absoluta de detalhes sobre a questão de tal importancia como a dialise dos soros.

A unica referencia, aliás, sucinta, que encontramos sobre o assunto, foi na nova edição (2.ª) do "Standard Methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health, Fig. XXXII".

Esta edição chegou-nos às mãos em meados de 1940, porém, mesmo que nos viesse a tempo, em nada alteraria o nosso projeto pela falta de uma descrição detalhada e, ainda, pelas desvantagens que apresenta para o manipulador a entrada numa sala refrigerada.

Nossa camara eliminou este grande inconveniente, pois é construida numa parede livre d'uma sala e, pelo seu sistema de refrigeração, não ha rolamento de ar frio sobre o operador, nem mudança na temperatura de dialise.

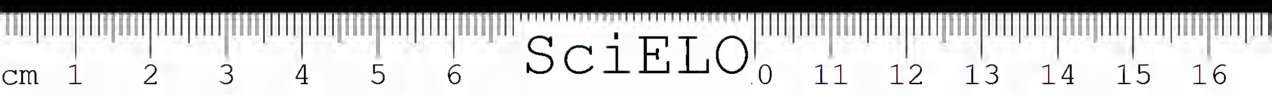
DESCRIÇÃO DA CAMARA

Como se vê pela Fotografia I, o aspecto externo é de uma grande geladeira dividida em 2 camaras de 3 portas cada uma. As dimensões externas são: compr. total 5ms.60, larg. 0m.98 e altura 2ms.25 na parte posterior e 2ms.00 na anterior. As portas com um vão livre de 0,70 x 0,70, aproximadamente, deixam o batente inferior a uma altura de 1,15 do chão, o que torna comodo o manuseio da camara.

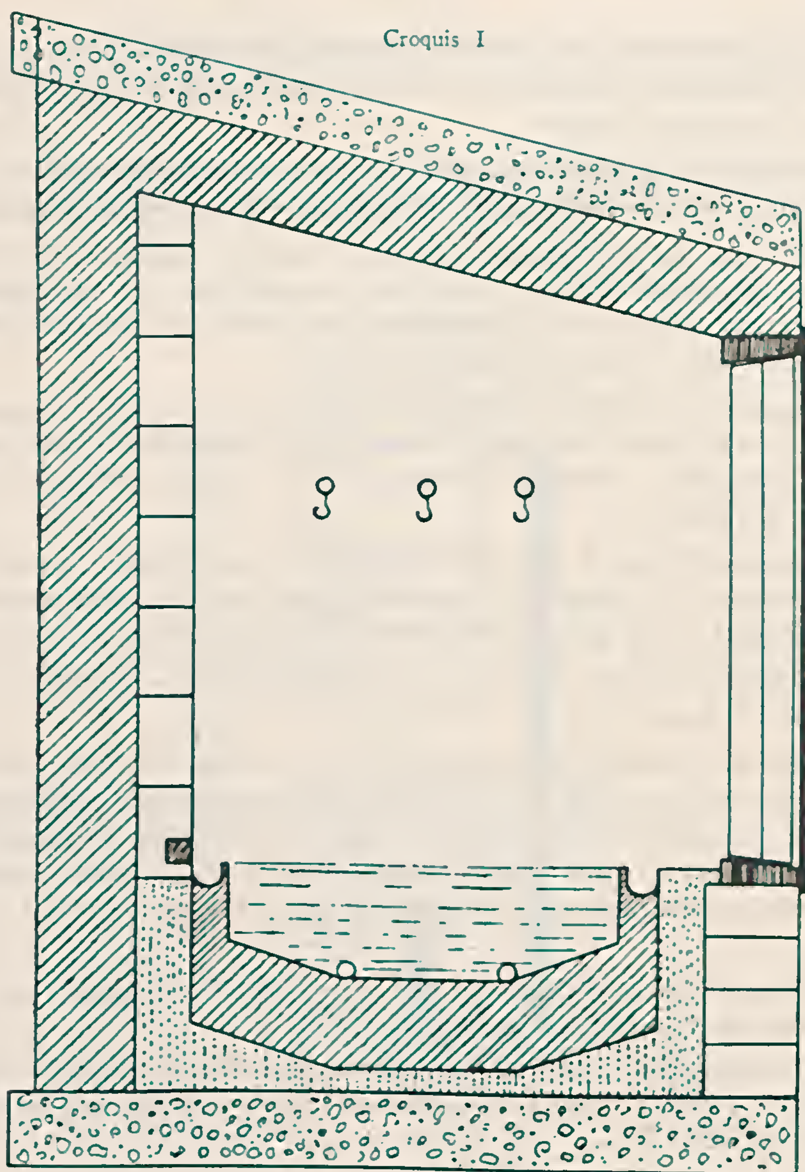
O arcabouço da camara (Croquis I) é essencialmente constituido por duas lages de concreto armado, embutidas nas paredes do fundo e do lado direito; uma inferior de 0cm.10 de espessura, horizontal, distante 0cm.73 do piso e apoiada em paredes de tijolo; outra superior de 0cm.08 de espessura, inclinada, formando um angulo de mais ou menos 45° com a parede e tambem apoiada em paredes de tijolo.

(*) A construção ficou a cargo da firma Vasone Junior & Cia., tendo como engenheiro o dr. Luiz Pinatel Filho e como fornecedor e responsavel pela refrigeração o dr. Orlando Ribeiro da firma Campos Salles.

E' com grande prazer que agradecemos a colaboração desses especialistas e a atenção dispensada pelo sr. Vasone Junior para que nenhum entrave dificultasse a rapida e perfeita execução da construção.



Croquis I



Escala 1:10

Concreto armado

Cortiça

Tijolo

Isofloc-c/cimento

Madeira

L.Godoy

Croquis I

Toda a parte interna, com exceção da dianteira correspondente às portas, é isolada por 2 camadas de cortiça de 6 cms., colocadas com as juntas desencontradas e tomadas por asfalto.

Nas paredes laterais e do fundo, uma fieira de tijolo de espelho recobre as 2 camadas de cortiça e, finalmente, uma camada de argamassa recobre os tijolos.

O acabamento da lage inferior, em que se apoiam os tanques de folha de chumbo, tem o seguinte arranjo, a contar de baixo para cima: a) uma camada de argamassa de cimento com um material isolante (Isofloc); b) duas camadas de cortiça de 6 cms., tomadas as juntas com asfalto.

Os tanques, em numero de 2, cujo corte apresentamos, têm as seguintes dimensões: compr. 2ms.40, larg. 0m.50, altura 0m.15. De ambos os lados, perfeitamente horizontais, desbordam as calhas com a necessaria inclinação para escoamento das aguas.

A renovação da agua é feita por intermedio de uma serpentina dupla, em canos de chumbo de ½ polegada. A agua refrigerada entra pelas duas extremidades da serpentina e sai por pequenos orificios vasados ao longo dos canos.

O esvasiamento total dos tanques de cerca de 170 litros de capacidade é feito pelas valvulas do fundo.

O conjunto de refrigeração compõe-se de: a) compressor Norge rotativo excentrico, acionado por motor de 1¼ HP., 220 volts, trifasico e de desligamento automatico; b) camara de resfriamento e camara de esfriamento propriamente dita, com salmoura; c) caixa dagua filtrada, privativa, com canalização propria e competentes registos, sendo que a canalização para a agua refrigerada é toda isolada.

A renovação horaria minima é de 1/10 do volume de cada tanque, que se mantem assim permanentemente entre 3,5°C e 4,5°C.

Para a sustentação dos cartuchos, um numero suficiente de ganchos estão pendurados em 3 ordens de canos, comportando 45 cartuchos por tanque, ou seja, 90 nos dois tanques.

Portas de vidro com tres laminas garantem o fechamento conveniente.

A Fotografia II mostra-nos, iluminado, o interior de uma das camaras.

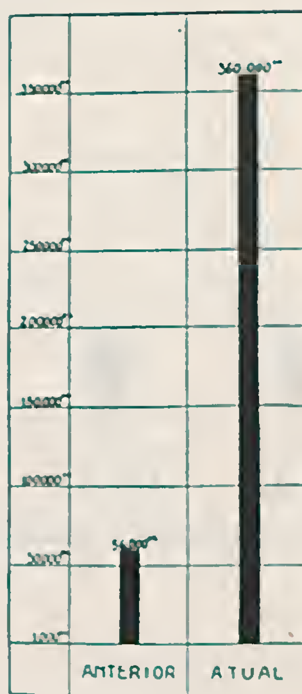
Pelas portas entreabertas pode-se vêr, claramente, como ficam mergulhados os cartuchos pendentes dos ganchos.

Um dos pontos delicados que tivemos de solucionar foi a pintura das paredes internas das camaras, isto porque o resfriamento destas paredes provocava condensação de vapor dagua e o humedecimento facilitava o desenvolvimento de cogumelos.

A questão ficou resolvida aplicando sobre a argamassa do reboque, já impermeabilizado com "Sika", tintas e a massa propria para a pintura a duco feita a pistola.

Como consequencia imediata das novas instalações, a capacidade mensal de dialise passou de 56.000 ccs. para 360.000 ccs. (Grafico 1).

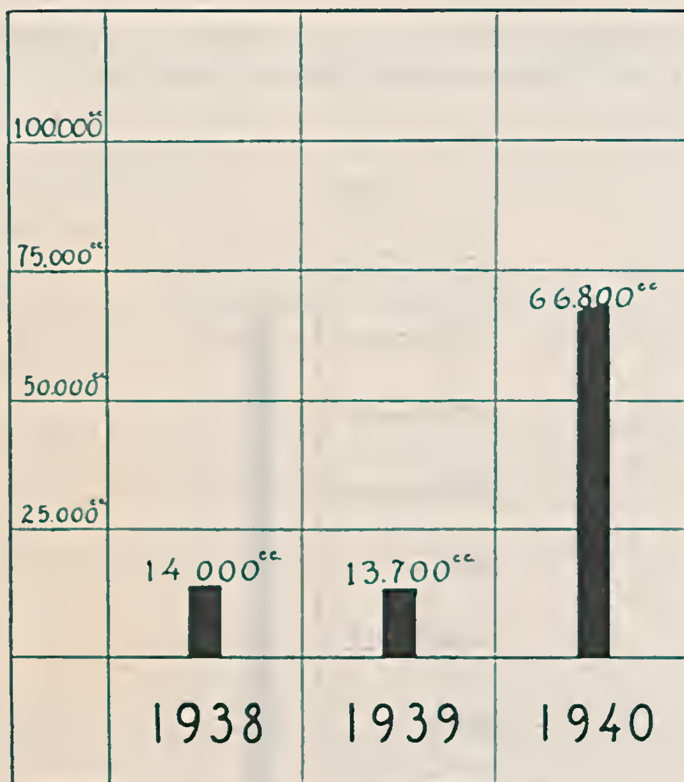
Grafico I



Ainda mais, o papel pergaminho não podia anteriormente ser usado mais de uma vez, pois, as incrustações de cogumelo que se formavam na parte externa do cartucho, durante a dialise, acabavam por romper o pergaminho. Atualmente a temperatura baixa impede estas formações destruidoras e os papeis, bem lavados, chegam a servir 5 a 6 vezes, até com vantagem, pois, dializam mais rapidamente do que os novos, ainda engomados.

A economia de papel pergaminho vê-se no Grafico II, em que são comparados os volumes dialisados por metro quadrado de papel.

Grafico II



RESUMO

Apresentamos uma nova Camara para Dialise, especialmente destinada a soros, com as seguintes caracteristicas:

a) tanque em folha de chumbo, assentado sobre camada isolante e encerrado numa construção semelhante a um balcão frigorifico;

b) agua refrigerada e filtrada, cuja renovação minima horaria é de 1/10 de volume de cada tanque, mantendo a temperatura da agua entre 3.5 e 4.5°C;

c) conjunto refrigerante Norge — Rolator de 1¼ de HP e de desligamento automatico.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine neue Dialysier-Kammer wird beschrieben, die eigens für Sera bestimmt ist. Sie weist folgende Charakteristiken auf:

a) die Blei-verkleidete Kammer, die auf eine Isolierschicht gesetzt und in eine Kühlbalkon-ähnliche Konstruktion eingebaut ist;

b) von dem gekühlten und filtrierten Wasser wird mindestens stündlich 1/10 des Volums in jeder Kammer erneuert und die Temperatur des Wassers zwischen 3.5 und 4.5°C gehalten;

c) Kühlanlage "Norge" mit 1¼ HP und automatischer Ausschaltung.

ABSTRACT

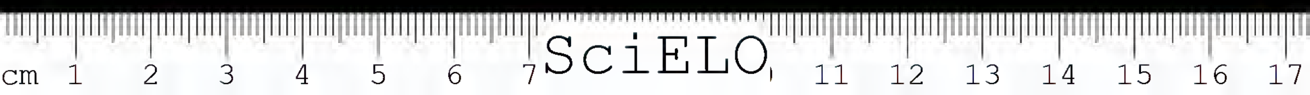
A new Dialysing-Chamber especially designed for sera is being described with the following essential details:

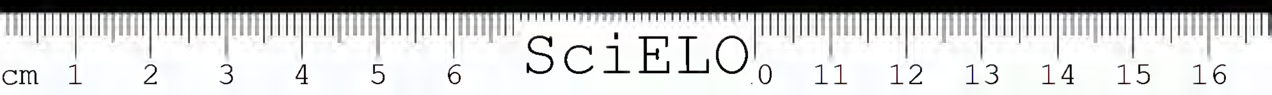
a) lead linned tank, resting on an insulating layer and enclosed in a refrigerating platform;

b) cooled and filtered water, of which at least 1/10 of its volume is renewed every hour in each tank, maintaining the temperature of the water between 3.5 and 4.5°C.;

c) the refrigerating assembly "Norge" with 1¼ and automatic release.

(Trabalho da Secção de Fisico-Quimica do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).



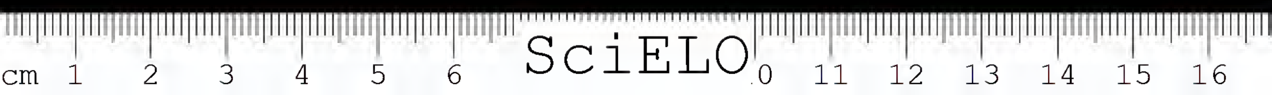

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

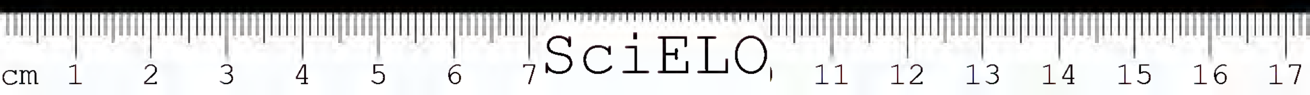


Fotografia I



Fotografia II


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16


SciELO



Impresso na
E. G. "Revista dos Tribunais"
São Paulo